



Уральский
федеральный
университет

имени первого Президента
России Б.Н. Ельцина

Химико-
технологический
институт

МОЛЕКУЛЯРНО-АБСОРБЦИОННЫЙ МЕТОД АНАЛИЗА ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

Учебно-методическое пособие

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
УРАЛЬСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ ПЕРВОГО ПРЕЗИДЕНТА РОССИИ Б. Н. ЕЛЬЦИНА

МОЛЕКУЛЯРНО-АБСОРБЦИОННЫЙ МЕТОД АНАЛИЗА ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

Рекомендовано методическим советом УрФУ
в качестве учебно-методического пособия
для студентов, обучающихся по программе бакалавриата
по направлениям подготовки
18.03.01 «Химическая технология»,
19.03.01 «Биотехнология»

Екатеринбург
Издательство Уральского университета
2015

УДК 543.2(076.5)
ББК 24.4я73-5
М75

А в т о р ы:

Е. В. Черданцева, И. В. Гейде, В. Г. Китаева, В. М. Зыскин,
Н. В. Марина, А. И. Матерн

Под общей редакцией И. В. Гейде

Р е ц е н з е н т ы:

кафедра физико-химической технологии защиты биосферы
Уральского государственного лесотехнического университета
(заведующий кафедрой доктор химических наук, профессор И. Г. П е р в о в а);
Е. М. Г о р б у н о в а, кандидат химических наук, старший научный
сотрудник лаборатории метрологического обеспечения наноиндустрии,
спектральных методов анализа и стандартных образцов Уральского научно-
исследовательского института метрологии

Н а у ч н ы й р е д а к т о р

Н. П. Б е л ь с к а я, доктор химических наук,
профессор кафедры технологии органического синтеза УрФУ

М75 Молекулярно-абсорбционный метод анализа органических
веществ : [учеб.-метод. пособие] / Е. В. Черданцева, И. В. Гейде,
В. Г. Китаева, В. М. Зыскин, Н. В. Марина, А. И. Матерн ; под общ. ред.
И. В. Гейде ; М-во образования и науки Рос. Федерации, Урал. федер.
ун-т. — Екатеринбург : Изд-во Урал. ун-та, 2015. — 96 с.

ISBN 978-5-7996-1567-3

В теоретической части учебно-методического пособия кратко излагаются основные положения молекулярно-абсорбционного метода анализа, даны термины и определения, приведены расчеты результатов и математическая обработка данных. Предложены вопросы и типовые задачи для самостоятельной подготовки студентов. Представлены лабораторные работы по спектрофотометрическому методу анализа.

Для студентов дневной, заочной и дистанционной форм обучения, осваивающих дисциплины «Физико-химические методы анализа органических веществ» и «Аналитическая химия и ФХМА. Часть 2», обучающихся по направлениям бакалавриата «Биотехнология» и «Химическая технология».

УДК 543.2(076.5)
ББК 24.4я73-5

ISBN 978-5-7996-1567-3

© Уральский федеральный университет, 2015

ПРЕДИСЛОВИЕ

Метод молекулярно-абсорбционной спектроскопии в УФ- и видимой областях спектра обычно называют спектрофотометрией. Он основан на избирательном поглощении электромагнитного излучения видимого и ультрафиолетового диапазона длин волн нерассеивающими системами — растворами, газами и тонкими пленками твердых веществ.

Абсорбционный спектральный анализ в настоящее время является одним из самых распространенных методов аналитического контроля в химической промышленности, металлургии, медицине, биологии, сельском хозяйстве, мониторинге окружающей среды и других областях науки и народного хозяйства. Такое распространение данного метода связано с доступностью средств измерения, возможностью полной автоматизации анализа, широкими пределами определяемых концентраций и малой погрешностью метода.

Молекулярно-абсорбционный метод анализа студенты изучают после освоения теоретического курса «Аналитическая химия и ФХМА», а также после выполнения лабораторного практикума по химическим методам анализа. Учебно-методическое пособие поможет закрепить и углубить полученные знания по данному разделу.

По результатам проделанной лабораторной работы студенты составляют отчет (*Приложение 1*).

В пособии рассматривается молекулярно-абсорбционная спектроскопия в ультрафиолетовой и видимой областях спектра, а также ее практическое применение. Более подробно с теоретическими основами метода можно ознакомиться в приведенных литературных источниках [1–9].

Коллектив авторов выражает благодарность Холевинской Лилии Викторовне и Кочерову Вениамину Ивановичу за предоставленные материалы и за помощь в подготовке учебного пособия.

МОЛЕКУЛЯРНО-АБСОРБЦИОННАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ В УЛЬТРАФИОЛЕТОВОЙ И ВИДИМОЙ ОБЛАСТЯХ СПЕКТРА (СПЕКТРОФОТОМЕТРИЯ)

Теоретические основы абсорбционного спектрального анализа

В основе любого метода анализа лежит изучение «отклика» вещества на внешнее воздействие, которое может быть осуществлено в виде тепла, химической реакции, электричества, электромагнитного излучения, потока элементарных частиц и других видов воздействия. В группу наиболее распространенных методов анализа входят методы, основанные на исследовании взаимодействия вещества с электромагнитным излучением от радиоволнового до γ -диапазонов. Если вещество **поглощает** электромагнитное излучение, метод относят к **абсорбционной спектроскопии**; если в определенных условиях анализируемое вещество само становится источником излучения — к **эмиссионной спектроскопии**.

При воздействии на вещество электромагнитное излучение может проходить через него, рассеиваться или поглощаться. Для целей анализа представляет интерес поглощение веществом излучения ультрафиолетовой, видимой и инфракрасной областей спектра. Использование этих диапазонов длин волн определяется характером таких процессов, которые происходят в веществе при взаимодействии с излучением. Классификацию спектральных методов анализа — в *Приложении 2*.

Параметрами электромагнитного излучения являются длина волны (λ), частота (ν) и соответствующая им энергия (E), которая связана с частотой и длиной волны соотношением, h — постоянная Планка

$$E = h \cdot \nu = h \cdot \frac{c}{\lambda}.$$

Все существующие виды излучения отличаются интенсивностью и длиной волны λ и образуют полную шкалу электромагнитных колебаний (ил. 1 на цветной вклейке и в *Приложении 3*).

Границы диапазонов условны, деление спектра на отдельные участки связано с методическими особенностями исследования взаимодействия излучения с веществом. Обычно в ультрафиолетовой и видимой областях спектра длину волны измеряют в нанометрах¹, а в инфракрасной — в микрометрах.

Термин «абсорбционный» происходит от лат. *absortio* — поглощение; распространен также термин «фотометрия» (φωτός — свет, μέτρον — измеряю), который относится к исследованиям поглощения в видимой области электромагнитных колебаний.

В зависимости от поглощающих частиц определяют вид анализа:

1. Молекулярно-абсорбционный анализ (МАО), основанный на поглощении излучения молекулами или сложными ионами анализируемого вещества в ультрафиолетовой, видимой и инфракрасной областях спектра.

2. Атомно-абсорбционный анализ (ААО), основанный на поглощении излучения изолированными атомами анализируемого вещества.

При поглощении излучения (в литературе принят термин «свет») атомы и молекулы светопоглощающего вещества переходят в новое энергетически возбужденное состояние [10, 11]. Приобретенная энергия атомов и молекул в одних случаях расходуется на повышение их колебательной, вращательной или поступательной энергии, в других — выделяется в виде тепла или вторичного излучения, а также расходуется на фотохимические реакции.

Исходное энергетическое состояние поглощающей частицы (атома, иона, молекулы) принято обозначать E_0 , более высокое энергетическое состояние, в которое частица переходит в результате взаимодействия с излучением, — E_1 . Поглощение излучения происходит только в том случае, если энергия поглощенного кванта совпадает с разностью энергий ΔE между квантованными энергетическими

¹ 1 нм = $1 \cdot 10^{-9}$ м = 10 Å; 1 мкм = $1 \cdot 10^{-6}$ м = 1000 нм; 1 Å = $1 \cdot 10^{-10}$ м.

уровнями в конечном E_1 и исходном E_0 энергетических состояниях поглощающей частицы:

$$\Delta E = E_1 - E_0.$$

Энергия квантов видимого и УФ-излучения соответствует разностям молекулярных электронных уровней. Поэтому поглощение таких квантов связано с переходом электрона с основного уровня E_0 на уровень E_1 . При этом частица переходит в возбужденное состояние, так как она обладает излишком энергии. Возбуждение существует очень короткое время (10^{-8} – 10^{-9} с). В одних случаях излишек энергии приводит к расщеплению молекулы и образованию новых веществ (фотохимическая реакция), в других — излишек энергии превращается в теплоту, в третьих — наблюдается люминесценция. Число возбужденных молекул мало по сравнению с общим числом молекул светопоглощающего вещества, поэтому теплота, выделяющаяся при их превращениях, неощутима.

Переход молекулы в возбужденное состояние сопровождается повышением ее внутренней энергии ($E_{\text{мол}}$), которая состоит из энергии вращения молекулы как целого ($E_{\text{вр}}$), энергии колебания атомных ядер относительно друг друга ($E_{\text{кол}}$) и энергии движения электронов, находящихся в электростатическом поле атомных ядер ($E_{\text{эл}}$):

$$E_{\text{мол}} = E_{\text{эл}} + E_{\text{кол}} + E_{\text{вр}}.$$

В зависимости от энергии поглощаемых квантов, в молекуле может происходить возбуждение либо вращательных и колебательных уровней при поглощении инфракрасного спектра, либо возбуждение вращательных, колебательных и электронных уровней молекулы при поглощении в видимой и ультрафиолетовой области спектра, то есть существует много вариантов перехода электрона [10, 11]. Часть этих вариантов маловероятна, частота осуществления остальных переходов зависит от многих случайных факторов и описывается функцией Гаусса $f(x)$ [12]:

$$f(x) = \frac{1}{\sigma \cdot \sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}}.$$

Говорят, что результаты измерений имеют нормальное распределение, если они описываются функцией Гаусса. Распределение Гаусса, в отличие от распределения Пуассона, характеризуется двумя независимыми параметрами x и σ , где x — среднее число отсчетов, которое мы ожидаем получить в случае многократного повторения измерений, σ — среднее стандартное отклонение.

Оказывается, что если на результаты измерений влияет большое число источников небольших случайных ошибок, то вся совокупность измерений имеет в качестве предельного распределения симметричную колоколообразную функцию Гаусса (рис. 1). Центр распределения x , совпадающий с его максимумом, будет истинным значением измеряемой величины.

Распределение Гаусса нормировано на единицу.

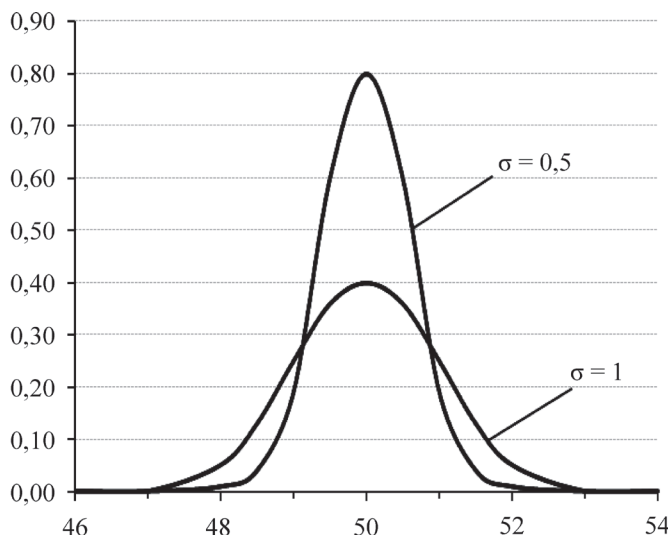


Рис. 1. Распределение Гаусса для $\sigma = 0,5$, $x = 50$ и $\sigma = 1$, $x = 50$

Основной электронный уровень E_0 может соответствовать связывающей σ или π -, а также *несвязывающей* n -орбитали. В последнем случае речь идет об орбитали неподеленной электронной пары, не участвующей в образовании химической связи. Электронный уровень E_1 , на который электрон переходит при поглощении кванта

электромагнитного излучения, соответствует *разрыхляющим* π^* - или σ^* -орбиталям (Приложение 4) [13].

На рис. 2 видно, что $n \rightarrow \pi^*$ -переходы связаны с поглощением квантов, обладающих малой энергией. Длина волны такого излучения соответствует видимой области. Поглощения же, вызываемые $\pi \rightarrow \pi^*$ - и $n \rightarrow \sigma^*$ -переходами, обычно обнаруживаются в УФ-области. Наконец, энергия $\sigma \rightarrow \sigma^*$ -переходов очень высока, поэтому соответствующие поглощения имеют $\lambda < 200$ нм и связаны с фотохимическим разрушением молекул.

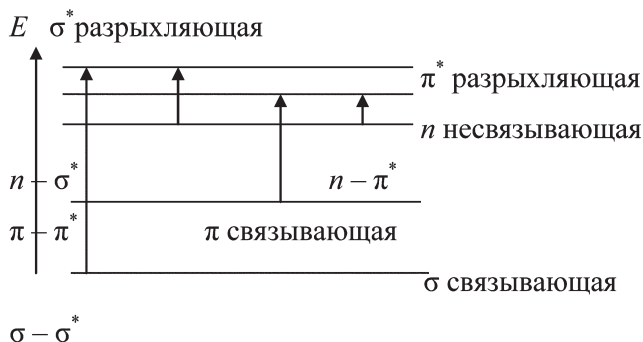
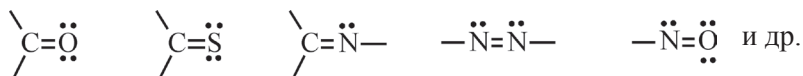


Рис. 2. Электронные переходы в молекуле с участием n -, σ -, π -электронов

Из сказанного следует, что способность молекул к поглощению электромагнитного излучения зависит от характера химических связей между атомами, входящих в их состав. Если имеются только σ -связи (например, в случае насыщенных углеводородов), в УФ- и видимой областях спектра поглощения нет. При наличии π -связей соединение может поглощать в данной области – возможны $\pi \rightarrow \pi^*$ и $n \rightarrow \pi^*$ -переходы.

Во многих случаях в молекулах удается выделить группы атомов, присутствие которых обуславливает поглощение. Органические функциональные группы с ненасыщенными связями, поглощающие в видимой и УФ-областях, называют *хромофорами*. Это группы



К хромофорам относятся также сопряженные двойные связи, в случае которых с удлинением цепи сопряжения длина волны поглощаемого света увеличивается. Дополнительный сдвиг максимума поглощения в длинноволновую область (батохромный сдвиг) возникает при сопряжении хромофорных групп с электронодонорными (*ауксохромы*) или электроноакцепторными (*антиауксохромы*) группировками (рис. 3).

ауксохромные



антиауксохромные

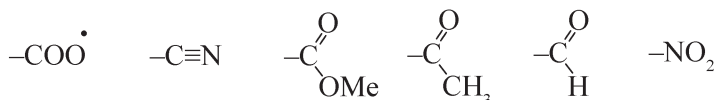


Рис. 3. Ауксохромные и антиауксохромные группы в УФ- и видимой спектроскопии

Влияние этих группировок очень хорошо прослеживается на примере ароматических соединений (табл. 1).

Таблица 1

Смещение максимума поглощения в замещенных производных бензола (в водных растворах)

Заместитель	λ_{max} , нм	ϵ_{max} , л · моль ⁻¹ · см ⁻¹
Отсутствует	254	204
CH ₃	261	225
Cl	263	190
OH	270	1450
CN	271	1000
COOH	273	970
NH ₂	280	1430

Для аналитической химии особенно важны соединения, имеющие в своем спектре *полосы переноса заряда*. Они возникают при взаимодействии атомов — донора и акцептора электронов. Типичными примерами могут служить многие комплексы ионов металлов с органическими реагентами.

Величины, характеризующие прохождение излучения через вещество

Для проведения МАА анализируемый материал переводят в раствор и помещают в кювету — прозрачный сосуд с плоско-параллельными стенками, в которой раствор вводится в поток излучения. На кювету с раствором (рис. 4) подают световой поток с интенсивностью I_0 от какого-то источника излучения. Через раствор пройдет световой поток интенсивности I_t (*transition* — пропускание); отраженную от кюветы часть светового потока обозначают I_r (*reflection* — отражение), рассеянную — I_d (*diffision* — рассеяние) и поглощенную раствором — I_a (*absorbtion* — поглощение). Уравнение баланса светового потока можно представить в следующем виде:

$$I_0 = I_t + I_a + I_r + I_d.$$

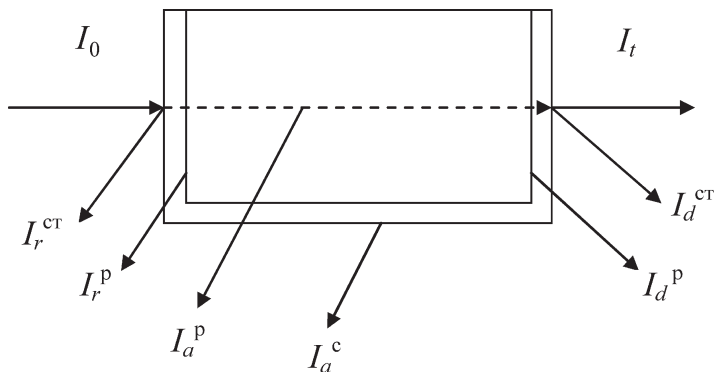


Рис. 4. Явления, возникающие при прохождении света через раствор:

I_r^{ct} — отражение от стенки кюветы; I_r^p — отражение от раствора

Составляющие I_r и I_d можно исключить из баланса путем относительного измерения изменений интенсивности светового потока, падающего на кюветы с анализируемым раствором и раствором сравнения. С использованием относительных измерений баланс светового потока принимает вид:

$$I_0 = I_t + I_a.$$

На практике можно измерить только величины I_t и I_0 .

Отношение $I_t/I_0 = T$ носит название пропускания или прозрачности раствора и имеет размерность доли или процента. Если излучение проходит через раствор не поглощаясь, то $I_t = I_0$, а $T = 1$ (или 100 %). Если световой поток полностью поглощается образцом, то $I_t = 0$, $T = 0$. Таким образом, величина T может принимать значения от 0 до 100 %.

В практике МАА чаще используется функционально связанная с пропусканием величина A — оптическая плотность раствора:

$$A = \lg \frac{I_0}{I_t} = -\lg T, \left(\frac{I_t}{I_0} = T \right).$$

Значит величина A может принимать значения от 0 до ∞ :

$$A = \lg \frac{I_0}{I_t} = -\lg T = -\lg 1 = 0$$

$$A = \lg \frac{I_0}{I_t} = -\lg T = -\lg 0 = \infty.$$

В качестве примера ниже приведен график сравнения оптической плотности и пропускания (рис. 5) [1, с. 29].

С использованием одного и того же средства измерений для определения различных по значению величин допустимая точность обеспечивается в том случае, если величины отличаются не более чем на два порядка. В связи с этим значения оптической плотности растворов изменяются от 0 до 2:

$$A = \lg \frac{I_0}{I_t} = \lg \frac{100}{1} = 2$$

$$A = \lg \frac{I_0}{I_t} = \lg \frac{100}{100} = \lg 1 = 0.$$

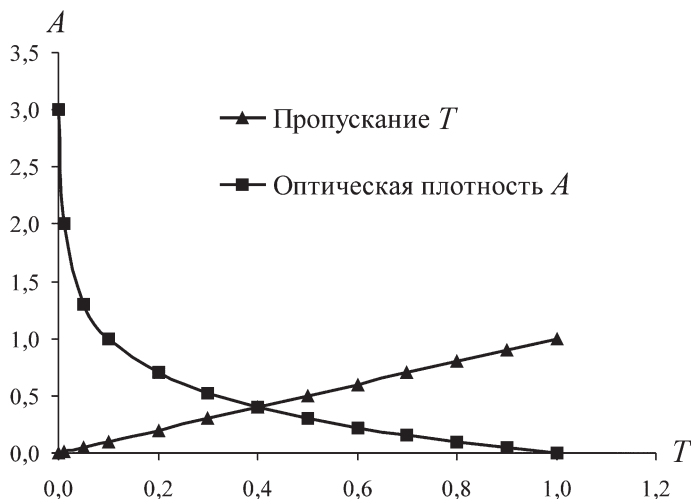


Рис. 5. Сравнение оптической плотности и пропускания

Основной закон светопоглощения

Этот закон называют законом Бугера — Ламберта — Бера, и его можно сформулировать следующим образом: относительное уменьшение интенсивности монохроматического светового потока, проходящего через вещество, прямо пропорционально приращению числа светопоглощающих молекул (поглощение монохроматического света окрашенным раствором прямо пропорционально концентрации поглощающего свет вещества и толщине слоя раствора, через который он проходит).

Пусть слой однородной среды толщиной $d\ell$ содержит светопоглощающее вещество в концентрации C . Через него пропускают монохроматический световой поток интенсивности I . Интенсивность света на выходе из слоя равна $I + dI$, причем $dI < 0$ (поток ослабляется). Экспериментально установлено, что доля поглощенного света — dI/I прямо пропорциональна толщине слоя и концентрации поглощающего вещества.

$$dI/I = -k \cdot C \cdot d\ell$$

Обозначив интенсивность падающего светового потока (то есть при $\ell = 0$) как I_0 , прошедшего как I_ℓ , проинтегрировав это выражение и перейдя к десятичным логарифмам, получим математическое выражение основного закона светопоглощения:

$$\lg I_0/I_\ell = a \cdot C \cdot \ell \text{ или } A = a \cdot C \cdot \ell,$$

где a — коэффициент поглощения.

Следует отметить, что при выводе основного закона светопоглощения не делалось никаких предположений ни о природе поглощающей среды, ни о характере поглощаемого излучения. Поэтому этот закон универсален. Он справедлив не только для спектрофотометрии, но и для других абсорбционных спектроскопических методов (атомно-абсорбционных, инфракрасных, рентгеновских). Поскольку связь между концентрацией и оптической плотностью прямо пропорциональна, именно оптическую плотность удобнее всего использовать в спектрофотометрии в качестве аналитического сигнала.

Если концентрация поглощающих частиц выражена в моль/дм³, а толщина слоя — в сантиметрах, то коэффициент поглощения называется *молярным коэффициентом поглощения* и обозначается ϵ_λ , и удельным коэффициентом светопоглощения a_λ , если концентрация выражена в г/л, %, мг/л, г/мл, мг/мл. Общепринятая форма записи основного закона светопоглощения в спектрофотометрии выглядит как (рис. 6):

$$A = \epsilon_\lambda \cdot C \cdot \ell$$

где A — оптическая плотность;

ϵ_λ — коэффициент поглощения;

ℓ — длина пути света через раствор, см;

C — концентрация вещества в растворе.

Молярный коэффициент поглощения является индивидуальной характеристикой светопоглощающего соединения. Он зависит от природы вещества и длины волны (энергии кванта) поглощенного излучения, но не зависит от концентрации вещества в растворе и толщины поглощающего слоя. Вещество поглощает только те

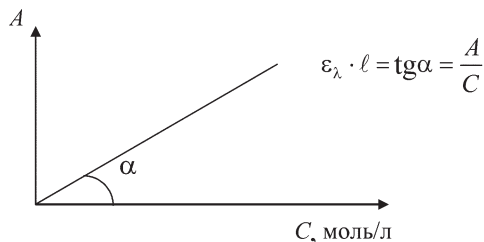


Рис. 6. Зависимость оптической плотности от концентрации раствора

кванты электромагнитного излучения, энергия которых может перевести электроны из состояния связывания в состояние разрыхления. Следовательно, чем более вероятен данный тип электронных переходов для светопоглощающего соединения, тем больше значение молярного коэффициента поглощения.

Молярный коэффициент поглощения является очень важной для анализа величиной. Он характеризует меру чувствительности аналитического определения. Действительно, как следует из основного закона светопоглощения, концентрация вещества в растворе (C_M) может быть выражена уравнением

$$C_M = \frac{A}{\epsilon_\lambda \cdot \ell},$$

из которого следует, что чем больше значение ϵ_λ , тем меньшую концентрацию можно определять в растворе.

Причины отклонения светопоглощения растворов от основного закона

Линейная зависимость между оптической плотностью и толщиной светопоглощающего слоя при данной концентрации является общим правилом, из которого нет исключений. Однако линейный характер зависимости оптической плотности от концентрации довольно часто нарушается, особенно в области высоких концентраций и (или) значений оптической плотности (рис. 7).

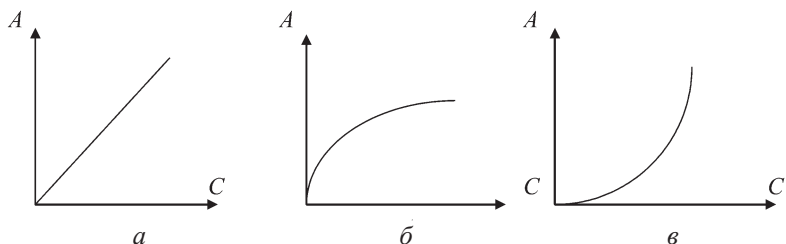


Рис. 7. Зависимость оптической плотности от концентрации раствора:
 a — система подчиняется закону светопоглощения; $b, в$ — не подчиняется

Основные причины этого явления следующие.

Физические причины

Основной закон светопоглощения излучения растворами выполняется только при следующих условиях: на кювету с раствором падает параллельный (на практике слабо сходящийся) поток монохроматического излучения перпендикулярно окну кюветы.

Необходимость строго монохроматического излучения требует применения монохроматизатора с бесконечно узкой полосой пропускания. При регистрации спектров поглощения в реальных условиях с использованием монохроматора с конечной шириной полосы возникают аппаратные искажения. Кроме того, имеются и другие искажения, вносимые приемно-усилительной и регистрирующей частью спектрометра, а также случайные шумовые ошибки измерения. В результате всех этих причин регистрируемый спектр соединения отличается от истинного спектра, описываемого основным законом светопоглощения.

Химические причины

Химические причины отклонения поглощения излучения растворами от основного закона определяются свойствами анализируемого соединения. Здесь объединены все химические превращения, которые вызывают изменения структуры светопоглощающих частиц. Можно выделить несколько основных причин:

а) обратимость химических реакций и ступенчатое образование соединений;

б) влияние рН-среды. В зависимости от кислотности среды при фотометрическом определении в растворе могут образовываться соединения разного состава с одним и тем же реагентом, которые поглощают излучение в различных диапазонах длин волн;

в) неконтролируемые процессы диссоциации, сольватации, конденсации, полимеризации, таутомерные превращения и т. д. при изменении концентрации компонента, температуры или ионной силы;

г) временная зависимость интенсивности окраски.

Многие реакции образования комплексных соединений идут медленно или в результате дают неустойчивое соединение, что приводит к изменению оптической плотности раствора во времени (рис. 8).

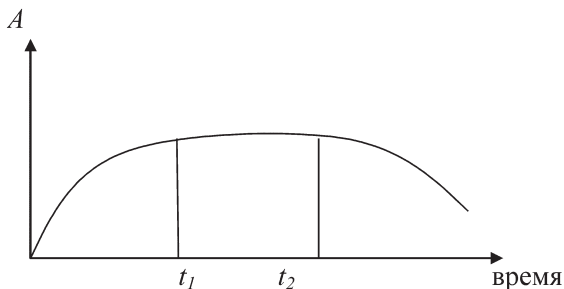


Рис. 8. Зависимость оптической плотности поглощающего комплексного соединения от времени

Закон аддитивность оптической плотности

Если в растворе присутствует несколько светопоглощающих соединений, не вступающих друг с другом в химическое взаимодействие, то оптическая плотность раствора равна сумме вкладов каждого из компонентов: $A_{\text{см}}^{\lambda} = A_1^{\lambda} + A_2^{\lambda} + \dots A_n^{\lambda}$.

Если в растворе присутствует несколько светопоглощающих соединений, не вступающих друг с другом в химическое взаимодействие, то оптическая плотность раствора является аддитивной суммой значений оптических плотностей каждого компонента раствора, измеренных при одной толщине поглощающего слоя и длине волны:

$$A_{\lambda} = A_1 + A_2 + \dots A_n$$

или

$$A_{\lambda} = \varepsilon_{\lambda} \cdot C_1 \cdot \ell + \varepsilon_{\lambda} \cdot C_2 \cdot \ell + \dots \varepsilon_{\lambda} \cdot C_n \cdot \ell,$$

где индексы 1, 2, ..., n относятся к различным компонентам светопоглощающей системы.

Практика молекулярно-абсорбционного анализа

Особенностью МАА как метода аналитического контроля является перевод проб анализируемого вещества в раствор в форме светопоглощающего соединения. Для этой цели используют различные типы химических реакций — реакции комплексообразования, реакции образования ионных ассоциатов и другие.

При выборе растворителя необходимо принимать во внимание границу его прозрачности, то есть ту величину длины волны, ниже которой применение растворителя невозможно из-за его собственного поглощения (*Приложение 5*).

Часто приходится устранять помехи со стороны некоторых ионов, присутствующих в растворе (мешающие ионы). Используя различные технические приемы, можно определить концентрации веществ до $10^{-6} \%$.

Основные узлы абсорбционных приборов

Независимо от используемой спектральной области приборы для измерения пропускания или поглощения растворов веществ состоят из пяти основных узлов (рис. 9) [14]:

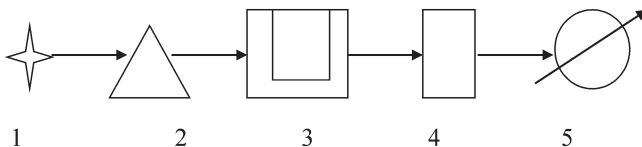


Рис. 9. Блок-схема прибора для абсорбционного анализа

1) Стабилизированный источник излучения энергии (света), в интересующем диапазоне длин волн (в видимой области используют

лампу накаливания с вольфрамовой нитью; для УФ-области используют водородные или дейтериевые газоразрядные лампы; для ИК-области используют раскаленную проволоку или раскаленные керамические стержни).

2) Устройство, выделяющее определенную область длин волн из спектра источника (монокроматизатор). В качестве монокроматизаторов используют светофильтры или монокроматоры. Светофильтры делятся на абсорбционные, представляющие собой цветные стекла и пленки и интерференционные, основанные на получении оптической интерференции. Светофильтры характеризуются по положению и полуширине максимума пропускания. Полуширина максимума пропускания абсорбционных светофильтров лежит в интервале 30–150 нм, а интерференционных порядка 10 нм.

Монокроматоры, снабженные призмой (ил. 2 на цветной вклейке) или дифракционной решеткой (ил. 3 на цветной вклейке) для диспергирования света, выделяют узкий, почти монокроматический, строго определенный интервал частот в широком диапазоне длин волн.

3) Кюветы с анализируемым веществом и раствором сравнения. Материал кюветы определяется тем спектральным диапазоном, в котором предполагается вести анализ. Для УФ-области кюветы изготавливают из кварца, для видимой области — из кварца или стекла, для ИК-области — из кристаллов хлорида натрия, бромида калия или других соединений. Большинство приборов снабжено комплектом парных кювет с толщиной слоя от 0,1 до 5,0 см.

4) Детектор или преобразователь, который превращает энергию излучения в измеряемый сигнал, как правило, электрический. Для видимой и УФ-части спектра это фотоэлементы или фотоэлектронные умножители.

5) Регистрирующее устройство. Индикатор сигнала в большинстве приборов снабжен шкалой в единицах пропускания или поглощения.

Сложность отдельных узлов абсорбционных приборов зависит от охватываемого интервала длин волн и области использования полученных данных. Однако независимо от степени сложности приборов функции каждого узла сохраняются. Оптическая схема спектрофотометра представлена на рис. 10.

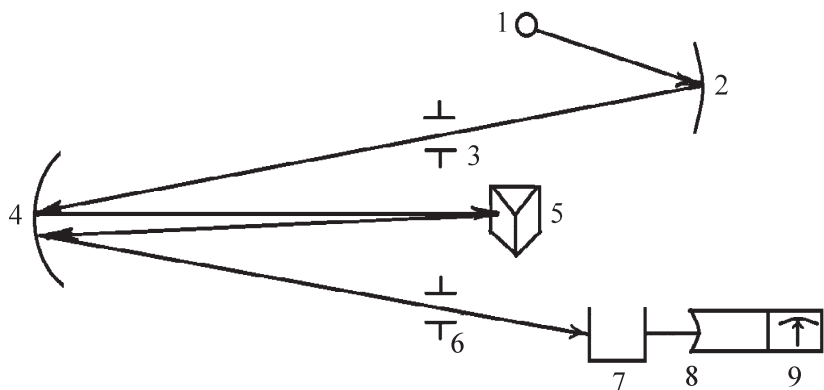


Рис. 10. Оптическая схема спектрофотометра:

1 — источник излучения; 2 — зеркало; 3 — входная щель; 4 — сферическое зеркало; 5 — диспергирующее устройство; 6 — выходная щель; 7 — кювета с раствором; 8 — фотоэлемент; 9 — индикатор сигнала.

Выбор длины волны для проведения молекулярно-абсорбционного анализа

Аналитическим сигналом в методе МАА является оптическая плотность раствора, измеренная при определенной длине волны. Графическая зависимость оптической плотности от длины волны называется спектром поглощения (рис. 11).

При $\ell — \text{const}$

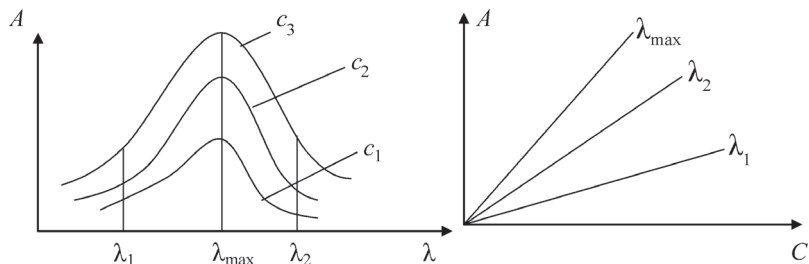


Рис. 11. Выбор длины волны для проведения фотометрического анализа

Правильный выбор длины волны позволяет уменьшить погрешность анализа и повысить чувствительность фотометрического определения. Поскольку молярный коэффициент поглощения является мерой чувствительности, то анализ следует выполнять при максимальном значении молярного коэффициента поглощения, которому соответствует длина волны максимума поглощения в абсорбционном спектре. В подавляющем большинстве фотометрических определений эта длина волны и будет оптимальной.

Выбор светофильтра для монохроматизации излучения подчиняется основному правилу: светофильтр должен максимально пропускать ту область спектра, в которой максимально поглощает раствор. Практически поступают следующим образом:

1. По спектру поглощения раствора и кривым пропускания светофильтра выбирают тот светофильтр, у которого λ максимума пропускания наиболее близка к λ максимума поглощения раствора.

2. Если спектральные характеристика раствора и светофильтра не известны, применяют практический способ выбора светофильтра. Для этого измеряют оптическую плотность раствора со всеми светофильтрами, имеющимися в приборе, и выбирают тот, с которым измеренная оптическая плотность раствора будет иметь максимальное значение.

3. Светофильтр можно выбрать по окраске анализируемого раствора — выбирают тот светофильтр, цвет которого является дополнительным цветом к цвету раствора (то есть при сложении цветов раствора и светофильтра получают белый цвет) (см. ил. 4 на цветной вклейке и Приложение б).

Методы определения содержания вещества в абсорбционном спектральном анализе

Предварительным и обязательным этапом анализа является выявление интервала концентраций, в котором сохраняется подчинение основному закону светопоглощения. Поскольку в уравнении основного закона обычно имеется две неизвестных величины: концентрация и молярный коэффициент поглощения, — метод абсорбционной спектроскопии для своей реализации нуждается

в градуировочных растворах, то есть в растворах, в которых концентрация определяемого компонента точно известна, а содержание компонентов матричного фона соответствует (в идеальном случае) их содержанию в анализируемом растворе.

Как следует из закона аддитивности оптической плотности, регистрируемое значение (A) является суммой оптических плотностей определяемого вещества (A_x), кюветы, растворителя, реагента, с помощью которого анализируемое соединение перевели в светопоглощающую форму, и других компонентов раствора. С искомым содержанием связано только значение A_x . Для того чтобы приравнять A к A_x измерение оптической плотности ведется относительно раствора сравнения, оптическая плотность которого приравнивается к нулю.

Методы определения содержания вещества в МАА делятся на абсолютные и дифференциальные.

В **абсолютных** методах раствор сравнения содержит все компоненты анализируемого раствора кроме определяемого (такой раствор сравнения иногда называют нулевым раствором). В **дифференциальной** фотометрии раствор сравнения содержит точно известное количество определяемого компонента [15].

Методы абсолютной фотометрии

К абсолютным относятся методы градуировочного графика, сравнения, добавок и расчета по молярному коэффициенту поглощения.

1. Метод градуировочного графика

Для определения содержания вещества методом градуировочного графика готовят серию из 5–8 стандартных (градуировочных) растворов разных концентраций определяемого компонента ($C_1, C_2, C_3, \dots, C_n$) и измеряют их оптические плотности ($A_1, A_2, A_3, \dots, A_n$) относительно раствора сравнения при выбранной длине волны поглощаемого излучения и толщине поглощающего слоя. Интервал концентраций градуировочных растворов должен охватывать предполагаемую область концентраций исследуемого раствора. Обязательно, чтобы в этом интервале концентраций соблюдался

основной закон светопоглощения и обеспечивалась максимальная воспроизводимость результатов измерений, то есть интервал значений оптической плотности градуировочных растворов должен лежать в пределах 0,14–1,90. По полученным данным строят график зависимости оптической плотности от содержания анализируемого компонента, называемый градуировочным графиком (рис. 12). При этом содержание в зависимости от решаемых задач и объекта анализа может выражаться как концентрация (массовая, молярная, мольная доля и др.), масса анализируемого соединения в градуировочных растворах или объемы рабочего раствора, взятые для приготовления градуировочной серии. Затем отбирают аликвоту анализируемого раствора и проводят все те же операции, что и при приготовлении градуировочных растворов, то есть все стадии и условия получения светопоглощающего соединения в обоих случаях должны быть одинаковы.

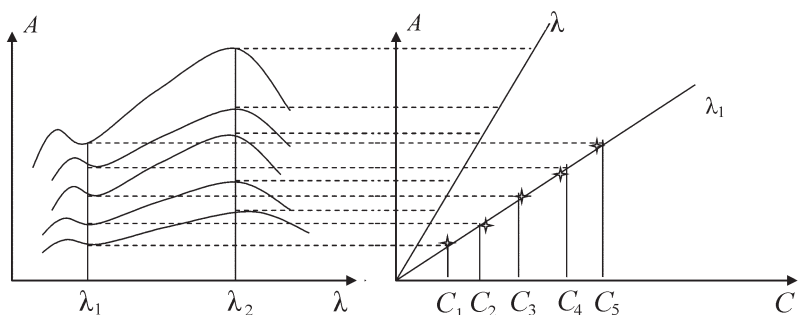


Рис. 12. Градуировочный график для определения концентрации раствора по светопоглощению при различных длинах волн

Определив оптическую плотность исследуемого раствора A_x , находят ее значение на оси ординат, а затем на оси абсцисс соответствующее ей значение концентрации C_x . Содержание вещества в граммах в исследуемом растворе определяют по формуле

$$m_x = C_x \cdot V_x \cdot M_x \cdot V_{\text{общ}} / V_1,$$

где V_1 — объем аликвотной части анализируемого раствора, взятый для приготовления фотометрируемого раствора в объеме V_x , см³;

V_x — объем фотометрируемого раствора, см³;

$V_{\text{общ}}$ — объем исследуемого раствора, см³;

M_x — молярная масса определяемого вещества, г/моль.

C_x — молярная концентрация раствора. Найденная по градуировочному графику, моль/дм³.

Если градуировочный график строят в координатах $A = f(V)$, где V — объем стандартного раствора с концентрацией, выраженной в T (мг/мл), то массу определяемого компонента вычисляют по формуле:

$$m_x = T_{\text{ст. р-ра}} \cdot V_x \cdot V_{\text{общ}} / V_1.$$

2. Метод сравнения

Метод сравнения используется при однократных анализах, если соблюдается основной закон светопоглощения. Для определения содержания вещества этим методом берут аликвоту исследуемого раствора (V_x , см³), добавляют необходимые реагенты для получения светопоглощающего соединения и измеряют оптическую плотность при выбранных условиях. Затем аналогично исследуемому раствору готовят 1–3 раствора с известными концентрациями определяемого вещества и измеряют их оптическую плотность в тех же условиях. Сравнивая значения оптических плотностей стандартного $A_{\text{ст}}$ и исследуемого A_x растворов, находят среднее значение неизвестной концентрации C_x определяемого вещества.

Согласно основному закону светопоглощения:

$$A_x = \varepsilon_\lambda \cdot C_x \cdot \ell$$

$$A_{\text{ст}} = \varepsilon_\lambda \cdot C_{\text{ст}} \cdot \ell.$$

Разделив первое выражение на второе и учитывая, что оптическая плотность измеряется в одинаковых условиях, то есть при одной и той же длине волны и в одной и той же кювете, получают:

$$\frac{A_x}{A_{\text{ст}}} = \frac{\varepsilon_\lambda \cdot \ell \cdot C_x}{\varepsilon_\lambda \cdot \ell \cdot C_{\text{ст}}} = \frac{C_x}{C_{\text{ст}}}$$

$$C_x = \frac{C_{\text{ст}} \cdot A_x}{A_{\text{ст}}}.$$

Если приготовить два стандартных раствора C_1 и C_2 таким образом, чтобы оптическая плотность первого раствора A_1 была

меньше оптической плотности исследуемого раствора A_x , а оптическая плотность второго раствора A_2 была больше A_x , то неизвестную концентрацию исследуемого раствора рассчитывают по формуле

$$C_x = \frac{C_1 + (C_2 - C_1) \cdot (A_2 - A_1)}{A_2 - A_1}.$$

Этот способ дает более точные результаты, если значения концентраций (или оптических плотностей) достаточно близки.

3. Расчетный метод

Готовят ряд растворов с известной концентрацией анализируемого вещества и по результатам измерения их оптических плотностей рассчитывают среднее значение молярного (или удельного) коэффициента поглощения:

$$\varepsilon_\lambda = \frac{A_{\text{ср}}}{C_{\text{ср}} \cdot \ell}.$$

Затем готовят раствор исследуемого вещества с теми же реактивами и в тех же условиях и измеряют его оптическую плотность. Концентрацию вещества находят по формуле:

$$C_x = \frac{A_x}{\varepsilon_\lambda \cdot \ell}.$$

Общее содержание вещества в растворе (m_x , мг) определяется из выражения

$$m_x = \frac{C_x \cdot V_x \cdot M_x \cdot V_{\text{общ}}}{V_1},$$

где V_1 — объем аликвотной части анализируемого раствора, взятый для приготовления фотометрируемого раствора в объеме V_x , см³;

V_x — объем фотометрируемого раствора, см³;

$V_{\text{общ}}$ — объем исследуемого раствора, см³;

M_x — молярная масса определяемого вещества, г/моль.

C_x — молярная концентрация раствора, найденная по среднему молярному коэффициенту светопоглощения, моль/дм³.

Расчетный метод требует обязательного подчинения основному закону светопоглощения.

4. Метод добавок

Метод основан на сравнении оптической плотности исследуемого раствора и того же раствора с добавкой известного количества определяемого вещества. Он позволяет создать одинаковые условия для фотометрирования данных растворов и широко используется для определения малых концентраций в присутствии больших количеств посторонних веществ. Метод добавок требует обязательного подчинения основному закону светопоглощения.

Искомую концентрацию находят *расчетным* или *графическим* методом.

Если C_x — концентрация исследуемого раствора, A_x — оптическая плотность исследуемого раствора, C_d — концентрация добавки в исследуемом растворе, A_{x+d} — плотность исследуемого раствора с добавкой, то:

$$C_d = C_{ст} \cdot \frac{V_{ст}}{V_{x+d}};$$

$$\frac{A_x}{A_{x+d}} = \frac{C_x}{C_x + C_d}$$

и далее

$$C_x = C_d \cdot \frac{A_x}{A_{x+d} - A_x} = \frac{C_{ст} \cdot V_{ст} \cdot A_x}{V_{x+d} \cdot (A_{x+d} - A_x)}.$$

Содержание определяемого вещества в исследуемом растворе находят из выражения:

$$m_x = \frac{C_x \cdot V_x}{V_{ст}} \cdot V_{общ} = \frac{C_{ст} \cdot V_{ст} \cdot A_x \cdot V_x \cdot V_{общ}}{V_{x+d} \cdot (A_{x+d} - A_x) \cdot V_1},$$

где V_x — объем фотометрируемого исследуемого раствора, см³; V_1 — объем аликвотной части исходного исследуемого раствора, взятого для приготовления раствора V_x , см³; $V_{общ}$ — общий объем исследуемого раствора, см³; $V_{ст}$ — объем стандартного раствора добавленного в исследуемый раствор, см³.

Если исследуемый окрашенный раствор и раствор с добавкой готовят в одинаковых мерных колбах, то их объемы одинаковы, то есть

$$V_x = V_{x+d}$$

тогда

$$m_x = \frac{C_{\text{ст}} \cdot V_{\text{ст}} \cdot A_x \cdot V_{\text{общ}}}{(A_{x+d} - A_x) \cdot V_1},$$

чтобы не происходила потеря точности при вычитании, разность $(A_{x+d} - A_x)$ должна быть не менее 0,1.

При использовании *графического метода* готовят раствор анализируемого вещества и два раствора с добавками известного количества исследуемого компонента и при выбранных условиях измеряют их оптическую плотность. Затем строят график зависимости оптической плотности от концентрации (количества) добавки, откладывая по оси ординат значения A_x , A_{x+d} и A_{x+2d} , а по оси абсцисс — концентрацию первой и второй добавок, учитывая, что в первом растворе (раствор анализируемого вещества без добавки) ее концентрация равна 0 (рис. 13).

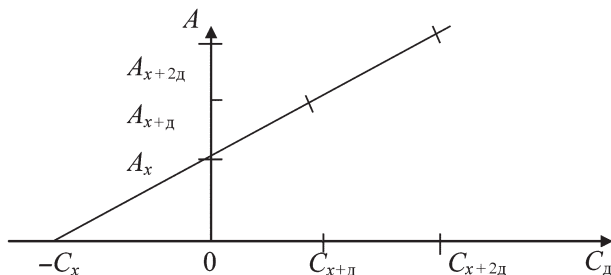


Рис. 13. Определение концентрации раствора методом добавок (графический способ)

Полученные точки A_x , A_{x+d} , A_{x+2d} соединяют прямой линией до пересечения с осью абсцисс в точке C_x . Абсолютное значение отрезка OC_x выражает искомую концентрацию исследуемого раствора.

Содержание определяемого вещества рассчитывают по формуле:

$$m_x = C_x \cdot \frac{V_x}{V_1} \cdot V_{\text{общ}}.$$

Метод дифференциальной фотометрии

В дифференциальной фотометрии раствор сравнения всегда содержит известное количество определяемого компонента [15]. Определение проводят методом градуировочного графика или методом сравнения. В зависимости от концентрации определяемого компонента в растворе сравнения различают одно- и двухстороннюю дифференциальную фотометрию (рис. 14). При односторонней фотометрии C_0 может быть меньше (прямой порядок измерения) или больше концентрации (обратный порядок измерения) градуировочных растворов и, следовательно, искомой концентрации анализируемого компонента.

Сочетание прямого ($C_0 < C_x$) и обратного ($C_0 > C_x$) порядков измерения реализуется в методе двухстороннего дифференцирования. Двухстороннее дифференцирование позволяет примерно в два раза увеличить интервал анализируемых концентраций при сохранении той же точности анализа.

Этот метод применяется для повышения точности анализа при определении больших концентраций веществ, а также для устранения мешающего влияния солевого фона и исключения светопоглощения реактива.

Он используется еще тогда, когда разбавление анализируемого раствора нежелательно, но из-за большой его концентрации нарушается основной закон светопоглощения или же значения оптических плотностей выходят за пределы шкалы прибора.

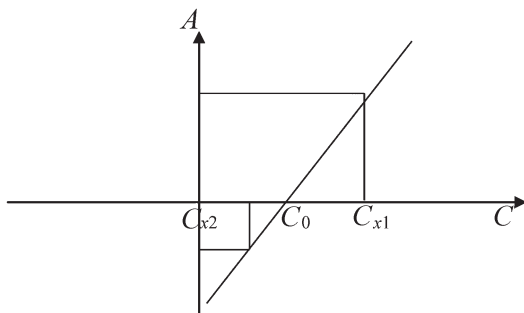


Рис. 14. Градуировочный график двухсторонней дифференциальной фотометрии

Анализ многокомпонентных систем

Определение суммы светопоглощающих компонентов основано на законе аддитивности оптической плотности.

Если анализируемый раствор содержит n компонентов, то для определения концентраций составляют систему уравнений, в которой число уравнений равно числу светопоглощающих компонентов, а значения оптической плотности анализируемого раствора необходимо измерить также при n значениях длин волн. Система линейных уравнений в общем виде может быть представлена матрицей:

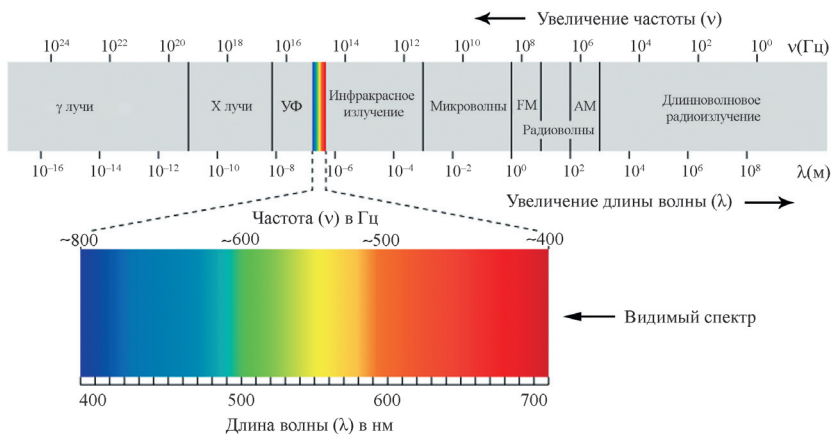
$$A_{\lambda_1} = \varepsilon_{\lambda_1} \cdot C_1 \cdot \ell + \varepsilon_{\lambda_1} \cdot C_2 \cdot \ell + \dots + \varepsilon_{\lambda_1} \cdot C_n \cdot \ell$$

$$A_{\lambda_2} = \varepsilon_{\lambda_2} \cdot C_1 \cdot \ell + \varepsilon_{\lambda_2} \cdot C_2 \cdot \ell + \dots + \varepsilon_{\lambda_2} \cdot C_n \cdot \ell$$

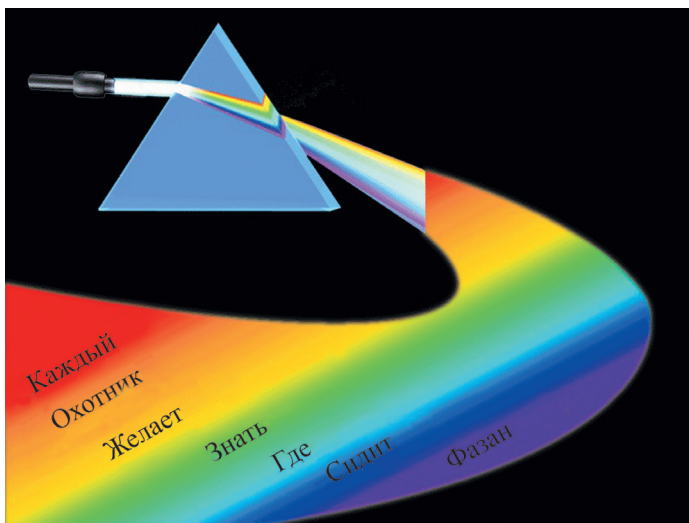
.....

$$A_{\lambda_n} = \varepsilon_{\lambda_n} \cdot C_1 \cdot \ell + \varepsilon_{\lambda_n} \cdot C_2 \cdot \ell + \dots + \varepsilon_{\lambda_n} \cdot C_n \cdot \ell,$$

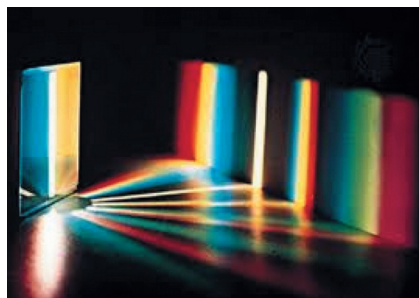
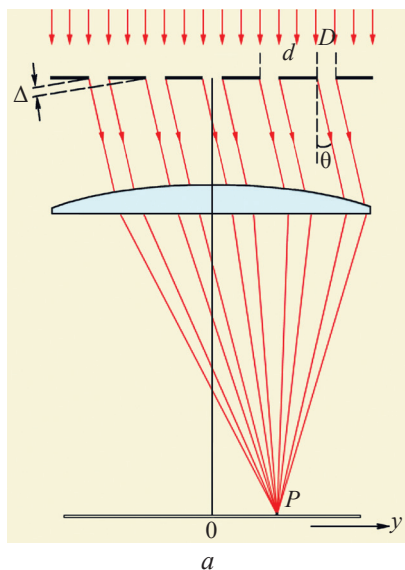
для решения, которой предварительно вычисляют значения молярных коэффициентов поглощения каждого компонента при всех выбранных длинах волн, используя для этой цели стандартные растворы (то есть растворы известной концентрация) компонентов.



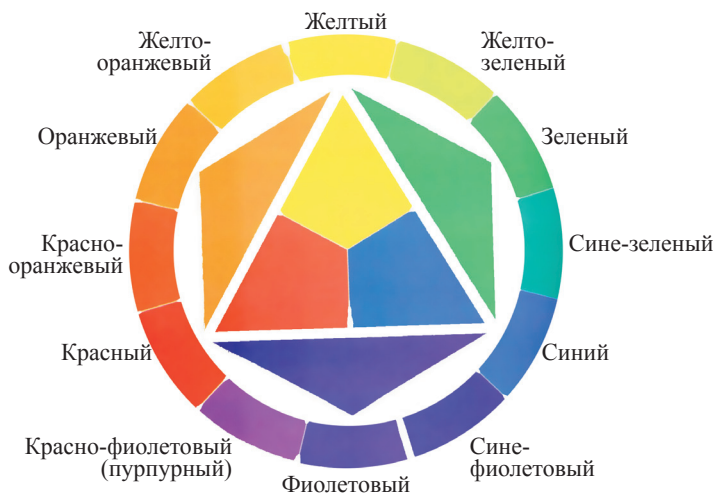
Ил. 1. Электромагнитный спектр излучения



Ил. 2. Призма и явление, которое происходит со светом при попадании на призму



Ил. 3. Дифракционная решетка (а) и явление (б), которое происходит со светом при попадании на дифракционную решетку



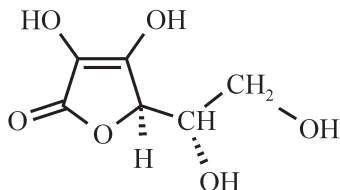
ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ

Лабораторная работа № 1

Фотометрическое определение массы аскорбиновой кислоты в растворе с реактивом Фолина

Цель работы: освоение методики фотометрического определения аскорбиновой кислоты методом добавок (графический и расчетный метод).

Объект анализа: аскорбиновая кислота — 2,3-ендиол- β -гулоно-1,4-лактон представляет собой белый кристаллический порошок с температурой плавления $T_{\text{пл}} = 191\text{ }^{\circ}\text{C}$, $M = 176\text{ г/моль}$. Она хорошо растворима в воде, этаноле, практически не растворима в эфире, бензоле хлороформе.



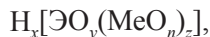
Являясь витамином, аскорбиновая кислота играет важную роль в жизнедеятельности организма. Благодаря наличию группы (H-O-C=C-O-H) она обладает ярко выраженными восстановительными свойствами, участвует в регулировании окислительно-восстановительных процессов в организме, в регулировании углеводного обмена, свертываемости крови, в регенерации тканей и др.

Сущность метода определения

Фотометрическое определение аскорбиновой кислоты в растворе основано на реакции образования окрашенного в синий

цвет ($\lambda = 760\text{--}780$ нм) продукта ее взаимодействия с реактивом Фолина.

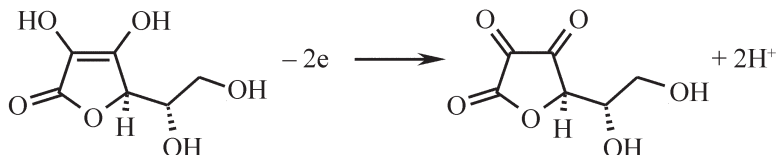
Реактив Фолина используется для определения различных органических соединений, обладающих восстановительными свойствами. Он представляет собой растворы гетерополикислот (ГПК) — сложных комплексных соединений общей формулы:



где Э — центральный ион-комплексобразователь (кремний или фосфор);

MeO_n — лиганд комплексного соединения (оксид молибдена или вольфрама).

В данной работе используется реактив Фолина, представляющий собой раствор α -формы ГПК желтого цвета. Точное строение данного соединения не установлено, в литературе на этот счет нет единого мнения. Появление синего окрашивания при взаимодействии аскорбиновой кислоты с реактивом Фолина связано с восстановлением в структуре ГПК молибдена (VI) до молибдена (V). Аскорбиновая кислота при этом окисляется до дегидроаскорбиновой кислоты:



Реактивы и оборудование

1. Стандартный раствор аскорбиновой кислоты с $T = 2,0 \cdot 10^{-4} \text{ г/см}^3$ по ГОСТ 4815-76.

2. Реактив Фолина получают взаимодействием в кислой среде растворов молибдата аммония и силиката натрия: в одном литре дистиллированной воды растворяют 36,03 г молибдата аммония $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{21} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (ГОСТ 3765-78) и добавляют 200 см³ 1,8 %-го раствора силиката натрия $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (ГОСТ 13079-93) и 150 см³ ледяной уксусной кислоты (ГОСТ 61-75). Полученный раствор разбавляют до 2000 см³ и тщательно перемешивают. Образование желтой формы кремнемолибденовой кислоты и установление

равновесия в растворе происходит в течение нескольких часов, поэтому этот реактив заранее готовят лаборанты. Хранят реактив Фолина в склянке темного стекла, он устойчив после приготовления 30 дней).

3. Вода дистиллированная (ГОСТ 6709-72).

4. Спектрофотометр или фотоэлектроколориметр (KF-77, КФК-3, ФЭК-56М и др.).

5. Мерные колбы вместимостью 100,0 и 50,0 см³ (ГОСТ 1770-74)

6. Бюретка вместимостью 25,0 см³ (ГОСТ 29251-91).

7. Воронка стеклянная (ГОСТ 8613-75).

8. Пипетки Мора вместимостью 5,0 и 10,0 см³ (ГОСТ 29227-91).

9. Кюветы стеклянные с $\ell = 1$ см (ГОСТ 25336-82).

Ход выполнения работы

Анализируемый раствор аскорбиновой кислоты в мерной колбе вместимостью 100,0 см³ доводят до метки дистиллированной водой, тщательно перемешивают (рабочий раствор).

В три мерные колбы вместимостью 50,0 см³ вносят по 5,0 см³ рабочего раствора аскорбиновой кислоты. Затем в эти колбы добавляют 0,0; 5,0; 10,0 см³ стандартного раствора аскорбиновой кислоты ($T_{\text{АК}} = 2,0 \cdot 10^{-4}$ г/см³) и 5 см³ раствора реактива Фолина, доводят до метки дистиллированной водой, тщательно перемешивают, выдерживают в течение 10 мин. до появления устойчивой синей окраски (окраска раствора устойчива в течение 2 ч).

Внимание: изменять последовательность прибавления реактивов нельзя.

Для приготовления раствора сравнения в мерную колбу вместимостью 50,0 см³ вносят 5 см³ реактива Фолина, доводят водой до метки и тщательно перемешивают.

Измерение оптической плотности проводят при длине волны 750 нм в кювете с толщиной светопоглощающего слоя 1 см.

Обработка результатов и расчет массы аскорбиновой кислоты в растворе

По данным измерений оптической плотности заполняют таблицу 2.

Для вычисления результатов определения графическим методом строят график зависимости оптической плотности от объема добавки стандартного раствора аскорбиновой кислоты и продолжают его до пересечения с осью абсцисс (рис. 15). Полученный отрезок V_x — это объем стандартного раствора аскорбиновой кислоты, соответствующий анализируемому раствору (рабочему раствору).

Таблица 2

Данные для определения массы аскорбиновой кислоты

Объем добавки стандартного раствора аскорбиновой кислоты, см ³	0,0	5,0	10,0
Оптическая плотность			

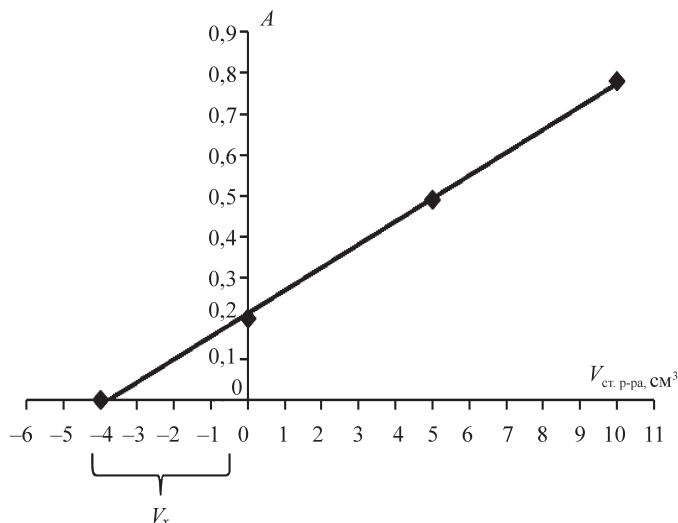


Рис. 15. График для определения аскорбиновой кислоты методом добавок ($\ell = 1$ см, $\lambda = 750$ нм)

Массу аскорбиновой кислоты вычисляют по формуле:

$$m_{\text{ак}} = T_{\text{ак}} \cdot V_x \cdot a,$$

где $m_{\text{ак}}$ — масса аскорбиновой кислоты в анализируемой пробе, г;

$T_{\text{ак}}$ — титр стандартного раствора аскорбиновой кислоты, г/см³;
 V_x — объем стандартного. раствора аскорбиновой кислоты по гра-
фику, см³;

$a = V_{\text{колбы}}/V_{\text{пипетки}}$ (разбавление).

Вычисление результатов определения расчетным методом про-
водят по формулам, приведенным в разделе *методы абсолютной*
фотометрии (см. выше, стр. 22–28).

В результате получают несколько значений определяемой вели-
чины, которые обрабатывают методами математической статистики
[16, с. 20–21; 17].

Вывод: сравнивают результаты определения аскорбиновой
кислоты, полученные двумя методами между собой и с величиной,
принятой за истинное содержание. Делают заключение о наличии
или отсутствии случайных и систематических погрешностей и ана-
лизируют возможные источники их возникновения.

Лабораторная работа № 2

Фотометрическое определение массы фенола в растворе

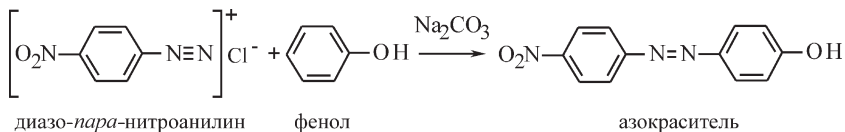
Цель работы: освоение методики фотометрического опреде-
ления фенола с диазотированным *пара*-нитроанилином методом
градуировочного графика (абсолютная и дифференциальная фото-
метрия).

Объект анализа: фенолы — ароматические соединения с одной
или несколькими гидроксильными группами в бензольном ядре.
Кроме непосредственно фенола, к ним относятся крезолы, ксилолы,
гваякол, тимол, а также другие соединения. Все они дают аналогич-
ные реакции, и при определении их при совместном присутствии
требуется предварительное их разделение.

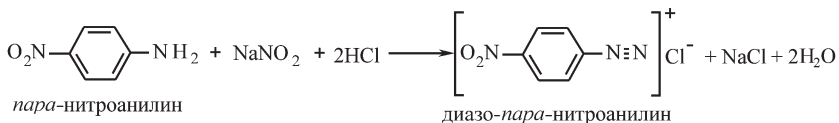
Сущность метода определения

Фотометрическое определение фенола основано на образовании
азокрасителя по реакции азосочетания фенола с диазотированным
пара-нитроанилином (4-нитробензолдиазоний хлоридом — название

по номенклатуре ИЮПАК) в щелочной среде, создаваемой карбонатом натрия:



Диазотирование *пара*-нитроанилина проводят азотистой кислотой, получаемой из ее соли нитрита натрия в присутствии избытка минеральной кислоты:



Эта реакция идет быстро при комнатной температуре. Полученным раствором можно пользоваться в течение суток.

Реактивы и оборудование

1. *Пара*-нитроанилин $C_m = 0,005 \text{ М}$ (0,69 г *пара*-нитроанилина растворяют в 65 см³ HCl с концентрацией 1 моль/л).
2. Соляная кислота, $C_m = 1 \text{ моль/л}$ (ГОСТ 3118-77).
3. Карбонат натрия, $\omega\% = 15 \text{ \%}$ -й раствор (ГОСТ 5100-85).
4. Нитрит натрия, $\omega\% = 2 \text{ \%}$ -й раствор (готовят в день применения) (ГОСТ 19906-74).
5. Стандартный раствор фенола с концентрацией 0,0125 г/л (ГОСТ 23519-93).
6. Мерные колбы вместимостью 50,0 см³ (ГОСТ 1770-74).
7. Мерный цилиндр вместимостью 25,0 см³ (ГОСТ 1770-74).
8. Пипетки вместимостью 2,0 и 10,0 см³ (ГОСТ 29227-91).
9. Бюретка вместимостью 25,0 см³ (ГОСТ 29251-91).
10. Мерный стаканчик вместимостью 50,0 см³ (ГОСТ 25336-82).
11. Спектрофотометр или фотоэлектроколориметр (KF-77, КФК-3, ФЭК-56М и др.).
12. Кюветы стеклянные с $\ell = 1 \text{ см}$ (ГОСТ 25336-82).

Ход выполнения работы

Приготовление диазотированного пара-нитроанилина

В коническую колбу вместимостью 250 см³ наливают примерно 100,0 см³ раствора *пара*-нитроанилина, добавляют 4,0 см³ 2 %-го раствора нитрита натрия и очень энергично перемешивают. Раствор должен обесцветиться, если он остался желтым, добавляют по каплям нитрита натрия до полного обесцвечивания.

Приготовление градуировочных растворов, анализируемого раствора и растворов сравнения

В мерные колбы вместимостью 50,0 см³ приливают последовательно 4,0; 8,0; 12,0; 16,0; 20,0 см³ стандартного раствора фенола с титром 0,0125 мг/см³ (если используют кюветы толщиной 1 см). К каждому из растворов прибавляют по 10 см³ раствора карбоната натрия и перемешивают. В каждую колбу приливают по 10,0 см³ диазотированного *пара*-нитроанилина, растворы перемешивают, **доводят до метки раствором карбоната натрия** и снова тщательно перемешивают, выдерживают 10 мин. до развития оранжевой окраски.

Внимание: изменять последовательность прибавления реактивов нельзя.

В анализируемый раствор с неизвестной концентрацией фенола прибавляют (строго соблюдая последовательность) те же реактивы, что и в градуировочные растворы, то есть 10 см³ карбоната натрия, 10,0 см³ диазотированного *пара*-нитроанилина, **доводят раствором карбоната натрия до метки** и тщательно перемешивают, выдерживают 10 мин. до развития окраски. Окраска растворов устойчива в течение 2 ч.

Для приготовления раствора сравнения в абсолютной фотометрии в мерную колбу вместимостью 50,0 см³ приливают последовательно 10 см³ раствора карбоната натрия, 10,0 см³ диазотированного *пара*-нитроанилина, перемешивают, разбавляют раствором карбоната натрия до метки и снова перемешивают, выдерживают 10 мин.

Раствором сравнения в дифференциальном методе служит градуировочный раствор, содержащий 12,0 см³ стандартного раствора фенола.

Измерение оптической плотности растворов

Учитывая правила выбора светофильтра и спектр поглощения диазо-*пара*-нитроанилина (рис. 16), измерение оптической плотности проводят со светофильтром с $\lambda = 490$ нм в кювете с $\ell = 1$ см. Оптическую плотность измеряют согласно приемам для абсолютной и дифференциальной фотометрии.

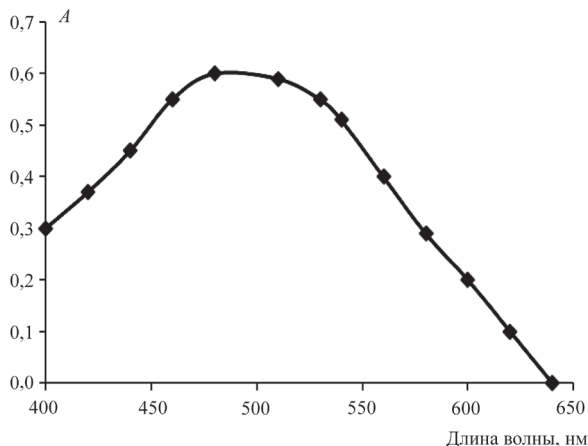


Рис. 16. Спектр поглощения диазо-*пара*-нитроанилина (максимум поглощения при $\lambda = 480\text{--}530$ нм)

Результаты измерения оптической плотности растворов записывают в виде таблицы 3.

Таблица 3

Данные измерения оптической плотности для анализа фенола

$V_{\text{ст. р-ра фенола}}, \text{см}^3$	0,0	4,0	8,0	12,0	16,0	20,0	Исследуемый р-р
$A_{\text{абс. фотометрии}}$	0,00						
$A_{\text{дифф. фотометрии}}$				0,00			

Обработка результатов

На основании полученных данных (для абсолютной и дифференциальной фотометрии) строят градуировочные графики в координатах $A = f(V_{\text{ст. р-ра}})$ (рис. 17).

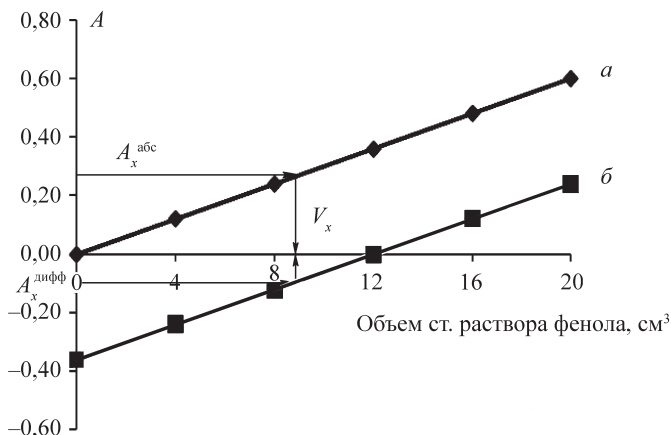


Рис. 17. Градуировочные графики для определения фенола в растворе методом абсолютной (а) и дифференциальной (б) фотометрией на КФК-3 при $\lambda = 490$ нм, в стеклянной кювете с $\ell = 1$ см

По величине оптической плотности испытуемого раствора по градуировочному графику находят соответствующий объем раствора (V_x).

Массу фенола в анализируемом растворе вычисляют по формуле:

$$m_{\text{фенола}} = T_{\text{ст. р-ра}} \cdot V_x,$$

где V_x — объем фенола, найденный по градуировочному графику, см³;
 $T_{\text{ст. р-ра}}$ — титр стандартного раствора фенола, г/см³.

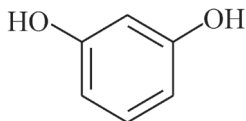
Выводы: сравнивают результаты определения фенола, полученные двумя методами между собой, с величиной, принятой за истинное содержание. Делают заключение о наличии или отсутствии случайных и систематических погрешностей и анализируют возможные источники их возникновения.

Лабораторная работа № 3

Спектрофотометрическое определение содержания резорцина в препарате

Цель работы: освоение методики определения основного действующего вещества в лекарственном препарате методом спектрофотометрии в УФ-области.

Объект анализа: резорцин (резорцинол) — *мета*-дигидроксibenзол. Применяется в производстве синтетических красителей, некоторых полимеров, в медицине как обеззараживающее средство при лечении кожных заболеваний, из-за дубящих свойств.



$$M = 110,11 \text{ г/моль.}$$

Сущность метода определения

Определение резорцина в препарате основано на использовании расчетного метода по известному удельному коэффициенту поглощения водного раствора резорцина при длине волны 273 нм (максимум поглощения резорцина в воде) и толщине кюветы 1 см ($E_{1\text{см}}^{1\%} = 180 \text{ л/см} \cdot \text{г}$).

Реактивы и оборудование

1. Вода дистиллированная (ГОСТ 6709-72).
2. Резорцин препарат (ГОСТ 9970-74).
3. Мерные колбы вместимостью 200,0 и 250,0 см³ (ГОСТ 1770-74).
4. Пипетки вместимостью 20,0 см³ (ГОСТ 29227-91).
5. Спектрофотометр ПЭ 5400 УФ (ЭКРОС) или UV-mini 1240 UV-VIS spectrophotometer (Shimadzu).
6. Кюветы кварцевые с $\ell = 1 \text{ см}$ (ГОСТ 20903-75).
7. Весы аналитические (ГОСТ 53228-2008).

Ход выполнения работы

Приготовление исследуемого раствора

Навеску резорцина массой 0,1000 г взвешивают с погрешностью не более 0,0002 г, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 250,0 см³, добавляют 50–70 см³ дистиллированной воды, перемешивают до полного растворения препарата, доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают (**раствор А**). Определение ведут в трех параллельных измерениях.

В мерную колбу вместимостью 200,0 см³ переносят 20,0 см³ раствора А, доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают (**раствор Б**).

В качестве раствора сравнения используют дистиллированную воду.

Измерение оптической плотности растворов

Оптическую плотность растворов измеряют на спектрофотометре в кварцевой кювете толщиной 1 см при $\lambda = 273$ нм (максимум полосы поглощения резорцина в воде). Результаты измерения оптической плотности растворов записывают в виде таблицы 4.

Таблица 4

Данные измерения оптической плотности для анализа резорцина

Номер образца	Масса образца, г	Оптическая плотность раствора
1		
2		
3		

Обработка результатов

Массовую долю резорцина (в %) вычисляют по формуле:

$$\omega\%_X = \frac{m_{\text{в-ва}}}{m_{\text{обр}}} \cdot 100\%;$$

$$m_{\text{в-ва } X} = T \cdot V_{\text{м.к.}} \cdot a = \frac{A_x \cdot V'_{\text{м.к.}} \cdot V''_{\text{м.к.}}}{E_{1\text{см}}^{1\%} \cdot \ell \cdot V_{\text{min}}^{1\%}};$$

$$\omega\%_X = \frac{A_x \cdot V_{\text{м.к.}}^I \cdot V_{\text{м.к.}}^{II}}{E_{1\text{см}}^{1\%} \cdot \ell \cdot V_{\text{мин}}^{III} \cdot m_{\text{обр}}} \cdot 100\%,$$

где T — концентрация раствора, титр (г/л), (мг/мл);

$a = \frac{V_{\text{м.к.}}^{II}}{V_{\text{мин}}^{III}}$ — коэффициент разбавления (аликвотирования);

A_x — оптическая плотность испытуемого раствора;

$E_{1\text{см}}^{1\%} = 180$ — коэффициент удельного поглощения водного раствора чистого резорцина при длине волны 273 нм;

ℓ — толщина поглощающего слоя раствора в кювете, см;

$m_{\text{обр}}$ — навеска препарата, г;

$V_{\text{м.к.}}^I$ — объем мерной колбы для приготовления раствора А, см³;

$V_{\text{м.к.}}^{II}$ — объем мерной колбы для приготовления раствора Б, см³;

$V_{\text{мин}}^{III}$ — объем раствора А, взятый пипеткой для приготовления раствора Б, см³.

$$\omega\%_X = \frac{A_x \cdot 250 \cdot 200}{180 \cdot \ell \cdot 20 \cdot m_{\text{обр}}} \cdot 100\%$$

Вывод: сравнивают результаты определения резорцина с величиной, принятой за истинное содержание. Делают заключение о наличии или отсутствии случайных и систематических погрешностей и анализируют возможные источники их возникновения.

Лабораторная работа № 4

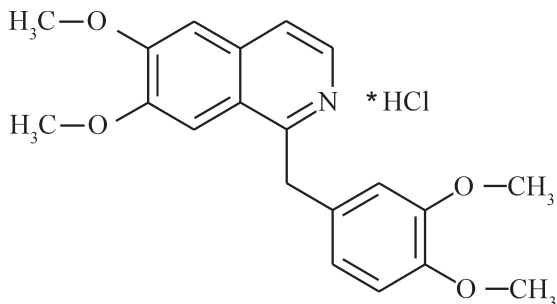
Количественное определение папаверина гидрохлорида и дибазола в таблетках «Папазол»

Цель работы: освоение методики спектрофотометрического определения двухкомпонентной смеси с наложением спектров поглощения; определение содержания дибазола и папаверина гидрохлорида в таблетках «Папазол» спектрофотометрическим методом.

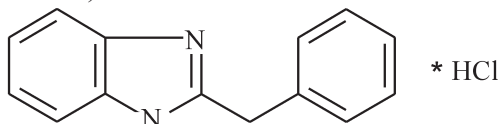
Объект анализа: препарат «Папазол» относится к комбинированным лекарственным средствам и содержит папаверин гидрохлорид и дибазол, обладающие спазмолитическим и антигипертензивным действием. Кроме того, дибазол оказывает общее

стимулирующее действие на организм, повышая его защитные свойства. Папазол применяется при легких формах артериальной гипертензии и различных спазмах [18].

Папаверин гидрохлорид ($M = 375,89$ г/моль)



Дибазол (гидрохлорид 2-бензилбензимидазола) ($M = 244,77$ г/моль)



Для анализа взяты таблетки папазола с содержанием папаверина гидрохлорида 0,03 г и дибазола — 0,03 г.

Сущность метода определения

Определение папаверина гидрохлорида и дибазола в таблетках «Папазол» основано на свойстве аддитивности оптической плотности в случае, когда спектры анализируемых веществ полностью перекрываются [19].

Реактивы и оборудование

1. Папаверин гидрохлорид субстанция (по ГОСТ Р 52249-2009).
2. Дибазол субстанция (по ГОСТ Р 52249-2009).
3. Соляная кислота с концентрацией 0,01 моль/дм³ (ГОСТ 3118-77).
4. Вода дистиллированная (ГОСТ 6709-72).
5. Спектрофотометр ПЭ 5400 УФ (ЭКРОС) или UV-mini 1240 UV-VIS spectrophotometer (Shimadzu).

6. Мерные колбы вместимостью 100,00 см³ (ГОСТ 1770-74).
7. Кюветы кварцевые с $\ell = 1$ см (ГОСТ 20903-75).
8. Весы аналитические (ГОСТ 53228-2008).

Ход выполнения работы

Подготовка стандартных растворов и раствора сравнения

В работе используются стандартные растворы папаверина гидрохлорида с массовой долей 0,0005 % и дибазола с массовой долей 0,002 % (**растворы Б**). В качестве растворителя используют соляную кислоту с молярной концентрацией 0,01 моль/дм³.

Для приготовления **растворов Б** навеску папаверина гидрохлорида (0,05 г) и навеску дибазола (0,1 г), взятые с погрешностью не более 0,0002 г, количественно переносят в мерные колбы вместимостью 100,0 см³, доводят до метки растворителем и тщательно перемешивают (**растворы А**). Переносят 1,0 см³ **раствора А** папаверина гидрохлорида и 2,0 см³ **раствора А** дибазола в мерные колбы вместимостью 100,0 см³ и доводят до метки растворителем (**растворы Б**).

В качестве раствора сравнения используют соляную кислоту с молярной концентрацией 0,01 моль/дм³.

Снятие спектров поглощения растворов для определения рабочих длин волн

Для получения спектров поглощения на спектрофотометре измеряют оптические плотности **растворов Б** в кварцевой кювете с $\ell = 1$ см относительно раствора сравнения в области 220–300 нм (табл. 5).

Таблица 5

Данные для построения спектра поглощения растворов

Растворы Б	Длина волны, нм							
	220	230	240	250	260	270	280	290
Раствор папаверина гидрохлорида								
Раствор дибазола								

По полученным данным строят графики зависимости оптической плотности от длины волны (спектры поглощения папаверина гидрохлорида и дибазола).

Спектры поглощения позволяют осуществить выбор длин волн для выполнения анализа лекарственной формы. Обычно при анализе смеси в качестве аналитических выбирают такие длины волн, при которых наблюдаются максимальные отношения величин поглощения растворов (рис. 18). В данном случае они соответствуют максимуму поглощения растворов препаратов, то есть 250 нм для папаверина гидрохлорида и 270 нм для дибазола.

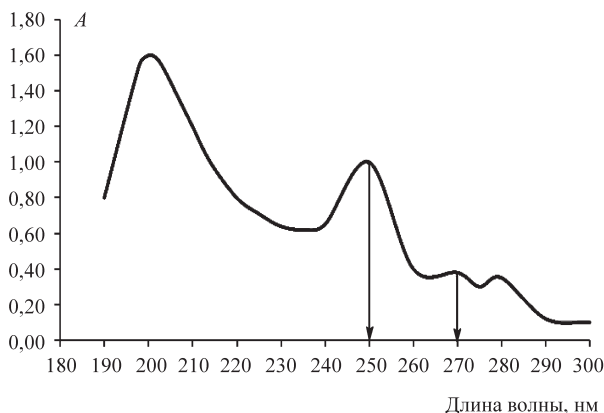


Рис. 18. Спектр поглощения раствора папазола

Определение удельных коэффициентов поглощения

Используя **растворы Б** готовят серию градуировочных растворов папаверина гидрохлорида с содержанием (C , %) в пределах 0,0001–0,0005 % и серию градуировочных растворов дибазола с содержанием в пределах 0,0005–0,002 %. В качестве растворителя используют 0,01 М раствор соляной кислоты. Измеряют их оптические плотности при длинах волн 250 и 270 нм и данные заносят в таблицу (табл. 6).

Расчет удельного коэффициента поглощения проводят на основании основного закона светопоглощения:

$$A = a_{\lambda} \cdot C \cdot \ell.$$

Таблица 6

**Оптическая плотность растворов папаверина гидрохлорида
и дибазола**

Оптическая плотность градуировочных растворов папаверина гидрохлорида			Оптическая плотность градуировочных растворов дибазола		
<i>C</i> , %	$\lambda = 250$ нм	$\lambda = 270$ нм	<i>C</i> , %	$\lambda = 250$ нм	$\lambda = 270$ нм
0,0001			0,0005		
0,0002			0,0010		
0,0003			0,0014		
0,0004			0,0017		
0,0005			0,0020		

Для получения более достоверных данных удельные коэффициенты поглощения папаверина гидрохлорида и дибазола при выбранных длинах волн рассчитывают по нескольким градуировочным растворам для соответствующих компонентов и усредняют полученные значения (табл. 7).

Таблица 7

**Удельный коэффициент поглощения папаверина
гидрохлорида и дибазола**

Удельный коэффициент поглощения папаверина гидрохлорида			Удельный коэффициент поглощения дибазола		
<i>C</i> , %	$\lambda = 250$ нм	$\lambda = 270$ нм	<i>C</i> , %	$\lambda = 250$ нм	$\lambda = 270$ нм
0,0001			0,0005		
0,0002			0,0010		
0,0003			0,0014		
0,0004			0,0017		
0,0005			0,0020		
Среднее значение			Среднее значение		

Приготовление исследуемого раствора папазола и определение его оптической плотности

Для этого навеску (около 0,05 г) порошка растертых таблеток папазола, взятую с погрешностью не более 0,0002 г, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100,0 см³ раствором 0,01 М соляной кислоты, взбалтывают в течение 3–5 мин. и доводят до метки. Фильтруют, отбрасывая первые 15 см³ фильтрата. Затем 4,0 см фильтрата помещают в мерную колбу вместимостью 100,0 см³, доводят объем раствора до метки раствором 0,01 М соляной кислоты и перемешивают. Определение ведут в трех параллельных измерениях.

Измеряют оптическую плотность полученных растворов при длинах волн 250 и 270 нм. Данные заносят в таблицу 8.

Таблица 8

Данные измерения оптической плотности раствора лекарственной формы

№ опыта	Масса образца, г	Оптическая плотность растворов при	
		$\lambda = 250 \text{ нм}$	$\lambda = 270 \text{ нм}$
1			
2			
3			

Вычисление содержания папаверина гидрохлорида и дибазола в лекарственной форме

Решая систему линейных уравнений, находят содержание папаверина гидрохлорида и дибазола в лекарственной форме:

$$\begin{cases} A_{\text{смеси}}^{250} = A_{\text{п.г.}}^{250} + A_{\text{д.}}^{250} = a_{\text{п.г.}}^{250} \cdot C_{\text{п.г.}\%} \cdot \ell + a_{\text{д.}}^{250} \cdot C_{\text{д.}\%} \cdot \ell, \\ A_{\text{смеси}}^{270} = A_{\text{п.г.}}^{270} + A_{\text{д.}}^{270} = a_{\text{п.г.}}^{270} \cdot C_{\text{п.г.}\%} \cdot \ell + a_{\text{д.}}^{270} \cdot C_{\text{д.}\%} \cdot \ell, \end{cases}$$

$$m_{\text{п.г.}} = \frac{C_{\text{п.г.}\%} \cdot m_{\text{образца}}}{100 \%},$$

$$m_d = \frac{C_{\text{д.}\%} \cdot m_{\text{образца}}}{100 \%}$$

Содержание папаверина гидрохлорида и дибазола в лекарственной форме пересчитывают на средний вес одной таблетки, для этого взвешивают 10 таблеток и рассчитывают средний вес одной таблетки.

Содержание папаверина и дибазола в лекарственной форме должно быть 0,027–0,033 г в расчете на средний вес одной таблетки (по Государственной Фармакопее) [20].

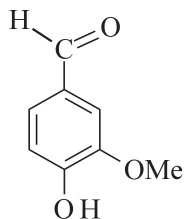
Вывод: приводят полученные данные, сравнивают результат с действительным значением и делают заключение о наличии или отсутствии случайных и систематических погрешностей, проанализировав возможные источники их возникновения.

Лабораторная работа № 5

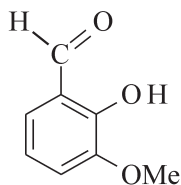
Спектрофотометрический анализ смеси *пара*- и *орто*-ванилинов

Цель работы: освоение методики спектрофотометрического определения смеси *пара*- и *орто*-ванилинов при их совместном присутствии.

Объект анализа: *пара*-ванилин (пищевой ванилин), $M = 152,1$ г/моль, является промежуточным продуктом в промышленном синтезе противотуберкулезного препарата фтивазида. Синтез *пара*-ванилина сопровождается образованием его изомера *орто*-ванилина:



пара-ванилин



орто-ванилин

Сущность метода определения

Определение *орто*- и *пара*-изомеров ванилина основано на свойстве аддитивности оптической плотности в случае, когда спектры анализируемых веществ полностью перекрываются.

Реактивы и оборудование

1. Исходный раствор *n*-ванилина 0,1 мг/см³ (ГОСТ 16599-71).
2. Исходный раствор *о*-ванилина 0,1 мг/см³ (ГОСТ 16599-71).
3. Вода дистиллированная (ГОСТ 6709-72).
4. Спектрофотометр ПЭ 5400 УФ (ЭКРОС), UV-mini 1240 UV-VIS spectrophotometer (Shimadzu).
5. Мерные колбы вместимостью 50,0 см³ (ГОСТ 1770-74).
6. Кюветы кварцевые с $\ell = 1$ см (ГОСТ 20903-75)
7. Бюретки вместимостью 25,0 см³ (ГОСТ 29251).
8. Пипетки градуированные вместимостью 5,0 см³ (ГОСТ 29227-91).
9. Микробюретка вместимостью 5,0 см³ (ГОСТ 20292-74).

Ход выполнения работы

Приготовление градуировочных растворов n-ванилина и о-ванилина

В мерные колбы вместимостью 50,0 мл помещают 3,0; 4,0 и 5,0 см³ исходного раствора *n*-ванилина, доводят дистиллированный водой до метки и перемешивают. Также готовят стандартные растворы *о*-ванилина.

Выбор аналитических длин волн

Записывают спектр поглощения одного из растворов каждой серии *n*- и *о*-ванилина в области 240–320 нм через каждые 10 нм и выбирают две длины волны λ_1 и λ_2 , при которых наблюдается наибольшее расхождение в спектрах поглощения веществ.

Определение удельных коэффициентов светопоглощения пара-ванилина и орто-ванилина

Измерив оптическую плотность каждого из трех градуировочных растворов *n*-ванилина при λ_1 и λ_2 , рассчитывают коэффициенты поглощения $a_n(\lambda_1)$ и $a_n(\lambda_2)$ (в мл·мг⁻¹·см⁻¹). Аналогично определяют коэффициенты поглощения $a_o(\lambda_1)$ и $a_o(\lambda_2)$ *о*-ванилина.

Определение концентрации *о*-ванилина и *п*-ванилина в растворе

Анализируемый раствор доводят водой до метки в мерной колбе вместимостью 50,00 см³ и измеряют (2–3 раза) оптическую плотность при длинах волн λ_1 и λ_2 .

Рассчитывают концентрации *п*- и *о*-ванилина в мг/см³, решая систему уравнений:

$$\begin{cases} A_{\lambda_1} = a_{\lambda_1}^1 \cdot C_1 \cdot \ell + a_{\lambda_1}^2 \cdot C_2 \cdot \ell \\ A_{\lambda_2} = a_{\lambda_2}^1 \cdot C_1 \cdot \ell + a_{\lambda_2}^2 \cdot C_2 \cdot \ell \end{cases}$$

Вывод: приводят полученные данные, сравнивают результат с действительным значением и делают заключение о наличии или отсутствии случайных и систематических погрешностей, проанализировав возможные источники их возникновения.

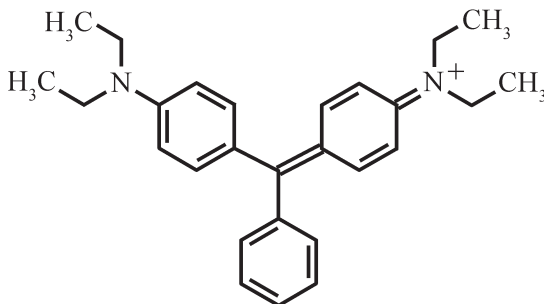
Лабораторная работа № 6

Спектрофотометрический анализ двухкомпонентной смеси: метилловый фиолетовый – бриллиантовый зеленый

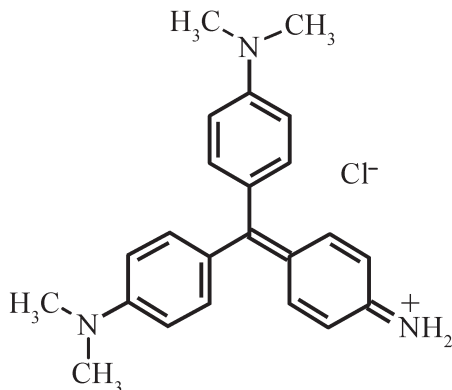
Цель работы: освоение методики спектрофотометрического определения метилового фиолетового и бриллиантового зеленого при их совместном присутствии.

Объект анализа: объектом анализа является смесь красителей трифенилметанового ряда — метилового фиолетового (МФ) и бриллиантового зеленого (БЗ).

Бриллиантовый зеленый ($M = 475,61$ г/моль):



Метилловый фиолетовый ($M = 393,94$ г/моль):



Метилловый фиолетовый представляет собой смесь гидрохлоридатетра-, пента- и гексаметил-*n*-розанилина. Выше приведена формула основного компонента — гидрохлоридатетраметил-*n*-розанилина.

Реактивы и оборудование

1. Стандартный раствор метилового фиолетового с концентрацией $0,05$ мг/см³ (ГОСТ 4919.1-77).
2. Стандартный раствор бриллиантового зеленого с концентрацией $0,05$ мг/см³ (ГОСТ 4919.1-77).
3. Вода дистиллированная (ГОСТ 6709-72).
4. Мерные колбы вместимостью $50,0$ см³ (ГОСТ 1770-74).
5. Бюретки вместимостью $25,0$ см³ (ГОСТ 29251-91).
6. Спектрофотометр ПЭ 5400 УФ (ЭКРОС), UV-mini 1240 UV-VIS spectrophotometer (Shimadzu).
7. Кюветы стеклянные с $\ell = 1$ см (ГОСТ 25336-82).

Ход выполнения работы

Выбор рабочих длин волн

В двух мерных колбах, вместимостью $50,0$ см³, готовят растворы индивидуальных красителей с концентрацией $0,005$ мг/см³. Измеряют светопоглощение приготовленных растворов в диапазоне длин волн 510 – 650 нм. Результаты заносят в таблицу 9 и представляют в виде графика $A = f(\lambda)$.

Таблица 9

Светопоглощение растворов красителей

Оптическая плотность	Длина волны, нм					
	510	520	530	540	...	650
$A_{\text{МФ}}$						
$A_{\text{БЗ}}$						
$A_{\text{МФ}} - A_{\text{БЗ}}$						

Используя полученные результаты, рассчитывают разности $A_{\text{МФ}} - A_{\text{БЗ}}$. Строят график зависимости ($A_{\text{МФ}} - A_{\text{БЗ}}$) от λ_1 и λ_2 в области максимума и минимума этой кривой с учетом условия $A_{\text{МФ}}$ и $A_{\text{БЗ}}$ должны быть $\geq 0,08-0,1$.

Определение удельных коэффициентов поглощения индивидуальных красителей при выбранных длинах волн λ_1 и λ_2

Готовят две серии растворов индивидуальных красителей в соответствии с таблицами 10 и 11 в мерных колбах, вместимостью 50,0 см³.

Таблица 10

Определение удельного коэффициента поглощения метилового фиолетового (при $\lambda_1 = \text{нм}$, $\lambda_2 = \text{нм}$)

Значения A^λ и a^λ	Концентрация красителя, мг/см ³				
	0,002	0,004	0,006	0,008	0,010
A^{λ_1}					
A^{λ_2}					
$a_{\text{МФ}}^{\lambda_1}$					
$a_{\text{МФ}}^{\lambda_2}$					

Таблица 11

**Определение удельного коэффициента поглощения
бриллиантового зеленого (при $\lambda_1 = \text{нм}$, $\lambda_2 = \text{нм}$)**

Значения A^λ и a^λ	Концентрация красителя, мг/см ³				
	0,002	0,004	0,006	0,008	0,010
A^{λ_1}					
A^{λ_2}					
$a^{\lambda_1}_{БЗ}$					
$a^{\lambda_2}_{БЗ}$					

По полученным данным по формуле $a^\lambda = A/C \cdot \ell$ для каждого раствора красителей рассчитывают удельные коэффициенты поглощения при выбранных длинах волн. Окончательный результат расчетов представляют в виде средних значений удельных коэффициентов поглощения красителей при рабочих длинах волн.

Проверка закона аддитивности оптических плотностей

При выбранных длинах волн λ_1 и λ_2 измеряют оптические плотности растворов смесей красителей, приготовленных в соответствии с таблицей 12 в мерных колбах, вместимостью 50,0 см³, и результаты измерений заносят также в таблицу 12.

Таблица 12

**Проверка закона аддитивности для смесей красителей
(при $\lambda_1 = \text{нм}$, $\lambda_2 = \text{нм}$)**

Концентрация красителей, мг/см ³	Номер смеси				
	1	2	3	4	5
Метилловый фиолетовый	0,001	0,002	0,003	0,004	0,005
Бриллиантовый зеленый	0,005	0,004	0,003	0,002	0,001

Значения оптических плотностей

$A^{\lambda_1}_{\text{изм}}$					
$A^{\lambda_2}_{\text{изм}}$					
$A^{\lambda_1}_{\text{расч}}$					
$A^{\lambda_1}_{\text{расч}}$					

Сюда же заносят значения оптических плотностей растворов смесей, рассчитанные по формуле:

$$A_{\text{расч.}}^{\lambda} = a_{\text{МФ}}^{\lambda} \cdot C_{\text{МФ}} \cdot \ell + a_{\text{БЗ}}^{\lambda} \cdot C_{\text{БЗ}} \cdot \ell.$$

Если результаты измеренных значений оптических плотностей отличаются от рассчитанных не более чем на 5 %, то можно считать, что закон аддитивности соблюдается.

Определение концентраций красителей

Анализируемый раствор, содержащий смесь красителей, помещают в мерную колбу вместимостью 50,0 см³ и доводят водой до метки, тщательно перемешивают. Измеряют оптические плотности полученного раствора при выбранных длинах волн λ_1 и λ_2 . Результаты измерений повторяют не менее трех раз и рассчитывают средние значения.

По закону аддитивности оптической плотности, используя систему уравнений, определяют концентрации красителей

$$C_1 = \frac{A^{\lambda_1} \cdot a_2^{\lambda_2} - A^{\lambda_2} \cdot a_2^{\lambda_1}}{(a_1^{\lambda_1} \cdot a_2^{\lambda_2} - a_1^{\lambda_2} \cdot a_2^{\lambda_1}) \cdot \ell} = \frac{(A^{\lambda_1} / a_2^{\lambda_1}) - (A^{\lambda_2} / a_2^{\lambda_2})}{[(a_1^{\lambda_1} / a_2^{\lambda_1}) - (a_1^{\lambda_2} / a_2^{\lambda_2})] \cdot \ell}$$

$$C_2 = \frac{A^{\lambda_2} \cdot a_1^{\lambda_1} - A^{\lambda_1} \cdot a_1^{\lambda_2}}{(a_1^{\lambda_1} \cdot a_2^{\lambda_2} - a_1^{\lambda_2} \cdot a_2^{\lambda_1}) \cdot \ell} = \frac{(A^{\lambda_2} / a_1^{\lambda_2}) - (A^{\lambda_1} / a_1^{\lambda_1})}{[(a_2^{\lambda_2} / a_1^{\lambda_2}) - (a_2^{\lambda_1} / a_1^{\lambda_1})] \cdot \ell}.$$

Вывод: приводят полученные данные, сравнивают результат со значением, принятым за истинное, и делают заключение о наличии или отсутствии случайных и систематических погрешностей, проанализировав возможные источники их возникновения.

Лабораторная работа № 7

Определение константы кислотной диссоциации тимолового синего (тимолсульфоталейн)

Цель работы: освоение методики спектрофотометрического определения константы кислотной диссоциации органических кислот; определение константы кислотной диссоциации тимолового синего.

Теоретические основы метода

Абсорбционная молекулярная спектроскопия является эффективным методом изучения химических равновесий в растворах. Определение констант равновесий этим методом основывается на использовании трех законов: закона действующих масс, основного закона светопоглощения и закона аддитивности оптических плотностей.

Рассмотрим случай, когда полосы поглощения молекулярной и ионизированной форм кислоты находятся в различных областях спектра (рис. 19).

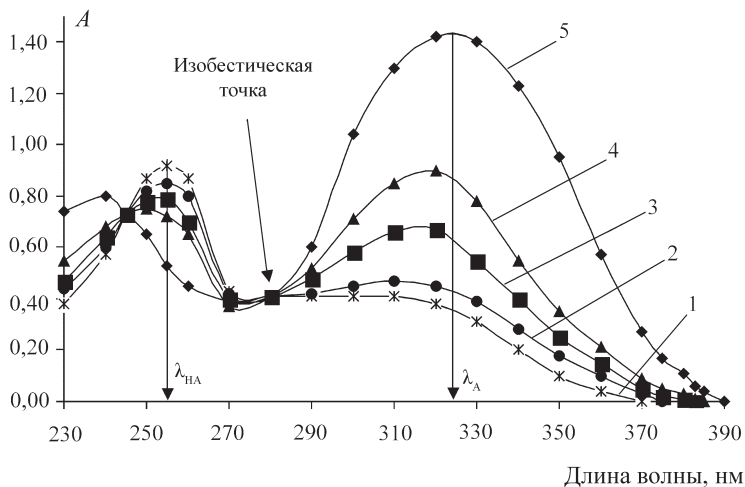


Рис. 19. Спектры поглощения эквимоларных растворов кислоты НА:

- 1 — молекулярная форма НА, 5 — ионизированная форма A^- ,
2–4 — смесь молекулярной и ионизированной форм

В соответствии с законом действующих масс при увеличении рН-раствора концентрация молекулярной формы кислоты уменьшается, а ионизированной возрастает. Следовательно, при длине волны λ_{HA} , отвечающей полосе поглощения молекулярной формы, оптическая плотность раствора кислоты будет уменьшаться и достигнет минимума. При длине волны λ_{A} , отвечающей полосе поглощения ионизированной формы, оптическая плотность, напротив,

будет возрастать и достигнет максимума в момент полной ионизации кислоты. Спектры поглощения эквимольных растворов кислоты с различным соотношением молекулярной и ионизированной форм обычно пересекаются в изобестической точке $\lambda_{\text{ит}}$. В этой точке коэффициенты поглощения молекулярной и ионизированной форм равны.

Поглощение раствора кислоты, содержащего молекулярную и ионизированную формы, при любой длине волны по закону аддитивности оптических плотностей определяется выражением:

$$A = \varepsilon_{\text{HA}} \cdot C \cdot \alpha_{\text{HA}} \cdot \ell + \varepsilon_{\text{A}} \cdot C \cdot \alpha_{\text{A}} \cdot \ell,$$

где A — оптическая плотность раствора кислоты;

ε_{HA} , ε_{A} — молярные коэффициенты поглощения молекулярной и ионизированной форм;

ℓ — толщина поглощающего слоя, см;

C — молярная концентрация кислоты в растворе, моль/дм³;

α_{HA} и α_{A} — молярные доли молекулярной и ионизированной форм в растворе, которые выражаются как:

$$\alpha_{\text{HA}} = \frac{[\text{H}^+]}{[\text{H}^+] + K_a} \text{ и } \alpha_{\text{A}} = \frac{K_a}{[\text{H}^+] + K_a},$$

где K_a — константа диссоциации кислоты.

Тогда с учетом того, что $A = \varepsilon_{\text{HA}} \cdot C \cdot \ell$ и $A_{\text{A}} = \varepsilon_{\text{A}} \cdot C \cdot \ell$, получаем:

$$A = \frac{A_{\text{HA}} \cdot [\text{H}^+]}{[\text{H}^+] + K_a} + \frac{A_{\text{A}} \cdot K_a}{[\text{H}^+] + K_a}.$$

Решив это уравнение относительно K_a , имеем окончательное уравнение:

$$K_a = \frac{(A - A_{\text{HA}})}{(A_{\text{A}} - A) \cdot [\text{H}^+]} = \frac{(A - A_{\text{HA}})}{(A_{\text{A}} - A) \cdot 10^{-\text{pH}}}.$$

Это уравнение является основным для расчета K_a .

$$\text{p}K = -\lg K_a = -\lg \frac{(A - A_{\text{HA}})}{(A_{\text{A}} - A) \cdot 10^{-\text{pH}}}$$

$$\text{p}K = \text{pH} + \lg \frac{A_{\text{A}} - A}{A - A_{\text{HA}}}.$$

Для определения величины K_a готовят серию эквимольных растворов кислоты с различными значениями pH, лежащими в интервале $pK_a - 2 \leq \text{pH} \leq pK_a + 2$, используя подходящий буфер. Спектры поглощения этих растворов регистрируют в кюветах одинаковой толщины. На основании полученных спектров выбирают длину волны, при которой различие в поглощении молекулярной и ионизированной форм максимально. При выбранной длине волны определяют A_{HA} (для растворов с $\text{pH} \leq pK_a - 2$) и A_{A} (для растворов с $\text{pH} \geq pK_a + 2$). При этой же длине волны определяют оптические плотности A_i растворов, имеющих промежуточные значения pH: от $\text{pH} = pK_a - 2$ до $\text{pH} = pK_a + 2$. Найденные значения pH и оптических плотностей A_{HA} , A_{A} , A_i подставляем в расчетную формулу и получают совокупность значений K_{ai} , которую обрабатывают статистически.

Константу диссоциации кислоты можно определить графическим методом на основании изучения зависимости оптической плотности растворов при выбранной длине волны от величины pH. Из уравнения для K_a в результате преобразований получим:

$$A = \frac{A_{\text{HA}} \cdot 10^{-\text{pH}} + A_{\text{A}} \cdot 10^{-pK_a}}{10^{-\text{pH}} + 10^{-pK_a}}.$$

Функция $A = f(\text{pH})$, определяемая этим уравнением, является монотонной, непрерываемой и имеет точку перегиба при $A = \frac{f(A_{\text{HA}} + A_{\text{A}})}{2}$ и две асимптоты $A = A_{\text{HA}}$ и $A = A_{\text{A}}$ (см. рис. 20). В растворах с $\text{pH} \leq pK_a - 2$ спектр поглощения кислоты отвечает молекулярной форме, а в растворах с $\text{pH} \geq pK_a + 2$ — спектру ионизированной формы. В точке перегиба $[\text{HA}] = [\text{A}]$, и значит, в соответствии с выражением $pK = \text{pH} + \lg \frac{A_{\text{A}} - A}{A - A_{\text{HA}}}$, получим $\text{pH} = pK_a$. Таким образом, перпендикуляр, опущенный из точки перегиба кривой $A = f(\text{pH})$ на ось абсцисс, позволяет определить значение pK_a (рис. 20).

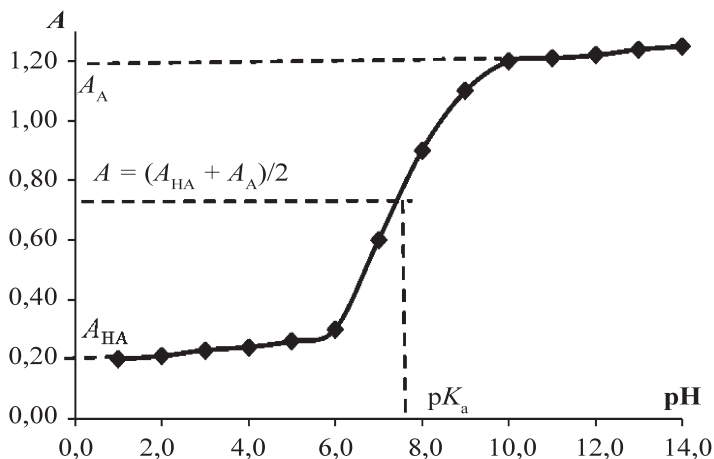
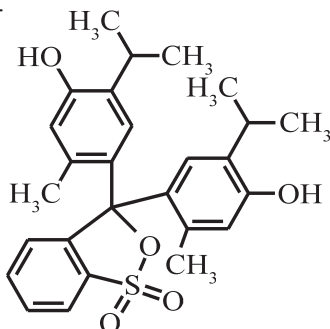


Рис. 20. Зависимость оптической плотности растворов кислоты НА от рН при длине волны, отвечающей максимуму полосы поглощения ионизированной формы

Объект исследования

Тимоловый синий — слабая двухпротонная кислота ($M = 468,62$ г/моль).



При изменении кислотности его водных растворов в интервале рН от 1 до 10 их окраска меняется дважды: из красной в желтую при рН 1,2–2,8 (в этой области рН отщепляется первый протон) и из желтой в синюю при рН 8,0–9,6 (в этой области рН отщепляется второй протон):



Красная \leftrightarrow желтая \leftrightarrow синяя

Полосы поглощения форм H_2A , HA^- , A^{2-} располагаются при 555, 425 и 660 нм, соответственно. Исследуя спектры поглощения тимолового синего в сильноокислых и кислых средах, можно определить первую константу его кислотной диссоциации K_{a1} . Изучение спектров поглощения тимолового синего в нейтральной и слабощелочных средах позволяет определить константу его кислотной диссоциации по второй ступени — K_{a2} . В данной работе рассмотрено определение константы кислотной диссоциации тимолового синего по второй ступени.

Реактивы и оборудование

1. Тимоловый синий, 0,5 %-й водный раствор (ГОСТ 4919.1-77).
2. Серия буферных растворов со значениями pH: 6,80–11,70.
3. Уксусная (ГОСТ 19814-74), фосфорная (ГОСТ 6552-80), борная кислота (ГОСТ 18704-787) с молярной концентрацией 0,04 моль/дм³.
4. Вода дистиллированная (ГОСТ 6709-72).
5. Спектрофотометр ПЭ 5400 УФ (ЭКРОС), UV-mini 1240 UV-VIS spectrophotometer (Shimadzu).
6. Мерные колбы вместимостью 25,0 см³ (ГОСТ 1770-74).
7. Кюветы кварцевые с $\ell = 1$ см (ГОСТ 20903-75).
8. Весы аналитические (ГОСТ 53228-2008).
9. Пипетки градуированные вместимостью 5,0 см³ (ГОСТ 29227-91).
10. pH-метр «Эксперт».

Ход выполнения работы

Приготовление буферных смесей с различными значениями pH

Для получения соответствующих значений pH используют универсальную буферную смесь из фосфорной, уксусной и борной кислот с молярной концентрацией 0,04 моль/дм³ для каждого из них. Для получения буферного раствора с желаемым pH к 100,0 см³ указанной смеси прибавляют X см³ раствора гидроксида натрия (табл. 13) с молярной концентрацией 0,2 моль/дм³.

Таблица 13

Универсальный буферный раствор

NaOH, г см ³	pH	NaOH, г см ³	pH	NaOH, г см ³	pH	NaOH, г см ³	pH
0,0	1,81	32,5	4,78	55,0	7,24	72,5	9,37
10,0	2,21	35,0	5,02	57,5	7,54	75,0	9,62
15,0	2,56	37,5	5,33	60,0	7,96	77,5	9,91
20,0	3,29	40,0	5,72	62,5	8,36	80,0	10,38
25,0	4,10	42,5	6,00	65,0	8,69	82,5	10,88
27,5	4,35	50,0	6,80	67,5	8,95	87,5	11,40
30,0	4,56	52,5	7,00	70,0	9,15	92,5	11,70

Готовят серию из 5–10 растворов в необходимой области значений pH. Значения pH приготовленных растворов измеряют на pH-метре.

Приготовление серии эквимольных растворов органической кислоты с различными значениями pH

В мерные колбы вместимостью 25,0 см³ помещают по 4,0 см³ 0,5 %-го водного раствора тимолового синего и добавляют буферные смеси с соответствующими значениями pH.

Спектры поглощения приготовленных растворов записывают на регистрирующем спектрофотометре, используя кювету с толщиной слоя 1 см, и выбирают длину волны, при которой наблюдается наибольшее изменение оптической плотности растворов с изменением pH.

Определение оптических плотностей растворов тимолового синего с разными значениями pH

При выбранной длине волны определяют оптическую плотность всех растворов тимолового синего с разными значениями pH. Полученные данные заносят в таблицу 14.

**Данные для определения константы диссоциации
тимолового синего**

Номер раствора	1	2	3	4	5	6	7	8	9
pH									
$A (\lambda = \dots \text{ нм})$									
K_{ai}									

Вычисление среднего значения константы кислотной диссоциации тимолового синего

По данным таблицы 14 вычисляют серию значений констант кислотной диссоциации тимолового синего K_{ai} по уравнению:

$$K_a = \frac{(A - A_{\text{HA}})}{(A_{\text{A}} - A) \cdot [\text{H}^+]} = \frac{(A - A_{\text{HA}})}{(A_{\text{A}} - A) \cdot 10^{-\text{pH}}}$$

или pK_a по уравнению:

$$pK_a = \text{pH} + \lg \frac{A_{\text{A}} - A}{A - A_{\text{HA}}}.$$

Результаты расчета обрабатывают статистически.

Определение значения константы кислотной диссоциации тимолового синего графическим методом

По данным таблицы 14 строят кривую зависимости $A = f(\text{pH})$ и находят значение pK_a (см. рис. 20). Сравнивают значения, полученные расчетным, графическим методами с табличным значением K_{a2} .

Вывод: полученные данные сравнивают с действительным значением и делают заключение о наличии или отсутствии случайных и систематических погрешностей, проанализировав возможные источники их возникновения.

Спектрофотометрическое изучение комплексообразования лантана (III) с арсеназо I (определение состава координационного соединения)

Цель работы: освоение методик спектрофотометрического определения состава координационных соединений; определение оптимальных условий реакции комплексообразования La (III) с арсеназо I и установление состава образующегося комплексного соединения методами изомолярных серий и молярных соотношений.

Теоретические основы метода

Для полной характеристики комплексного соединения, используемого в фотометрическом анализе, необходимо знать:

- уравнение химической реакции образования комплексного соединения;
- оптимальные значения pH-раствора, при которых достигается наибольшая степень образования комплексного соединения;
- состав комплексного соединения, его константу устойчивости (или константу нестойкости) и молярный коэффициент поглощения.

В литературе описаны различные спектрофотометрические методы определения состава комплексных соединений, среди которых наибольшее применение получили методы изомолярных серий, изобестической точки и молярных соотношений [21–23].

Метод изомолярных серий (метод Остромысленского — Жоба).

Изомолярной серией называется серия растворов с постоянной суммарной концентрацией реагирующих компонентов **М** (металл) и **Л** (лиганд), но с различным отношением их концентраций C_L / C_M .

Метод основан на определении отношения изомолярных концентраций реагирующих веществ, отвечающего максимальному выходу образующегося комплексного соединения. Для выполнения анализа готовят растворы обоих компонентов одинаковой молярной концентрации и смешивают их в антибатных соотношениях (чаще всего от 1:9 до 9:1), сохраняя неизменным общий объем раствора ($V_M + V_L = V = \text{const}$). При этом суммарное количество грамм-молей

обоих компонентов в общем объеме смеси всегда остается постоянным ($C_M + C_L = C = \text{const}$).

Реакцию комплексообразования проводят при постоянных значениях ионной силы и рН-растворов. Буферный раствор для поддержания постоянного значения рН-среды подбирают так, чтобы отсутствовало взаимодействие между компонентами изомолярной серии и буферной смеси. Рабочую длину волны выбирают, как правило, исходя из λ_{max} поглощения комплексного соединения и наибольшей разности оптических плотностей растворов изомолярной серии.

Измерив оптические плотности приготовленных растворов изомолярной серии, строят график зависимости A от соотношения концентраций или объемов компонентов изомолярной серии и определяют положение максимума поглощения на изомолярной кривой (рис. 21). Максимальным светопоглощением обладает такой раствор, в котором содержание образующегося комплексного соединения является наибольшим. Следовательно, объемное соотношение компонентов изомолярной серии, отвечающее максимуму поглощения, соответствует стехиометрическому соотношению реагирующих веществ.

При образовании малоустойчивых комплексных соединений на изомолярной кривой не будет наблюдаться четкого максимума поглощения (пунктирная линия на рис. 21). В этом случае его положение определяют экстраполяционным методом.

Если на изомолярной кривой положения максимумов совпадают для различных концентраций анализируемых молярных серий, то это говорит о постоянстве состава комплексного соединения. Смещение максимума на кривых обычно происходит при образовании нескольких комплексных соединений.

Метод молярных отношений (метод «насыщения»)

Метод молярных отношений является наиболее общим приемом исследования прочных комплексов. Сущность метода заключается в установлении зависимости величины A (или ΔA) от концентрации одного из компонентов при постоянной концентрации второго компонента и наоборот. Зависимость A (ΔA) от C_L/C_M при постоянной концентрации C_M (кривая насыщения) изображена на рис. 22. Точка излома на кривой отвечает отношению стехиометрических

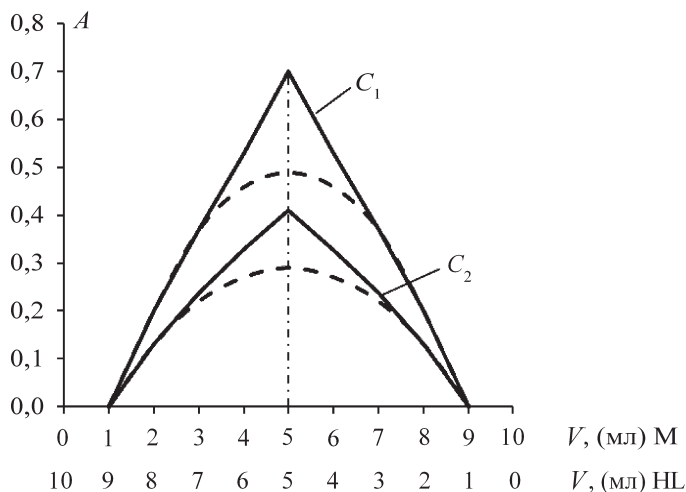


Рис. 21. Определение соотношения реагирующих компонентов методом изомолярных серий

коэффициентов. Если точка излома на кривой «насыщения» наблюдается нечетко, ее определяют экстраполяцией прямолинейных участков кривой до взаимного пересечения (рис. 22).

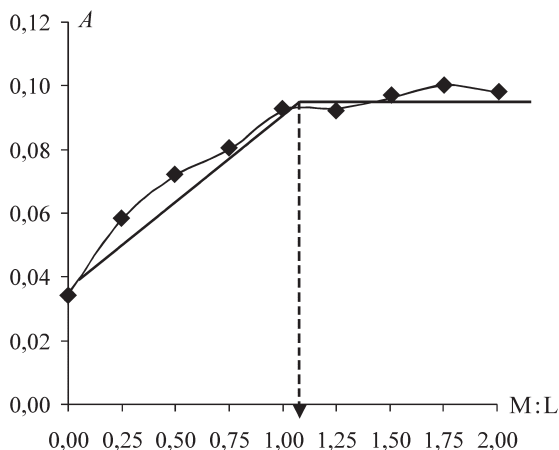


Рис. 22. Кривая насыщения металла с лигандом при $V(L) = \text{const}$

Метод изобестической точки

Метод применяется для определения состава прочных мономерных комплексных и хелатных соединений, когда поглощают все компоненты раствора.

Если прочный комплекс образуется по реакции



и поглощают все три компонента, то спектры поглощения изомолярной серии растворов имеют две изобестические точки при

$$\frac{C_R}{C_M + C_R} > \frac{n}{n+1} \text{ и } \frac{C_R}{C_M + C_R} < \frac{n}{n+1},$$

в которых суммарное поглощение всех компонентов раствора не зависит от их концентрации в смеси и равно постоянной величине

$$A = A_k + A_M + A_R = \text{const}; \Delta A = 0; \Delta \epsilon = \epsilon_k - \epsilon_M - n\epsilon_R = 0.$$

Однако системы, в которых поглощают все три компонента раствора, встречаются сравнительно редко; обычно поглощают только два компонента: окрашенный комплекс и реактив (R).

Если комплексообразователь **M** света не поглощает ($\epsilon_M = 0$), то спектры поглощения изомолярных растворов имеют только одну изобестическую точку при $\frac{C_R}{C_M + C_R} > \frac{n}{n+1}$ (рис. 23).

Состав изомолярного раствора, кривая поглощения которого проходит через изобестическую точку и имеет наибольшую величину максимума поглощения образующегося комплекса, отвечает составу комплекса.

Зависимость оптической плотности от состава раствора изомолярной серии при длине волны изобестической точки выражается двумя прямыми линиями (рис. 24), точка пересечения которых определяет состав комплекса. Абсцисса точки пересечения:

$$\frac{C_R}{C_M + C_R} = \frac{n}{n+1}.$$

Состав изомолярного раствора, отвечающий точке пересечения, соответствует составу, для которого абсорбционная кривая $A = f(\lambda)$ имеет наибольшую величину максимума поглощения образующегося комплекса.

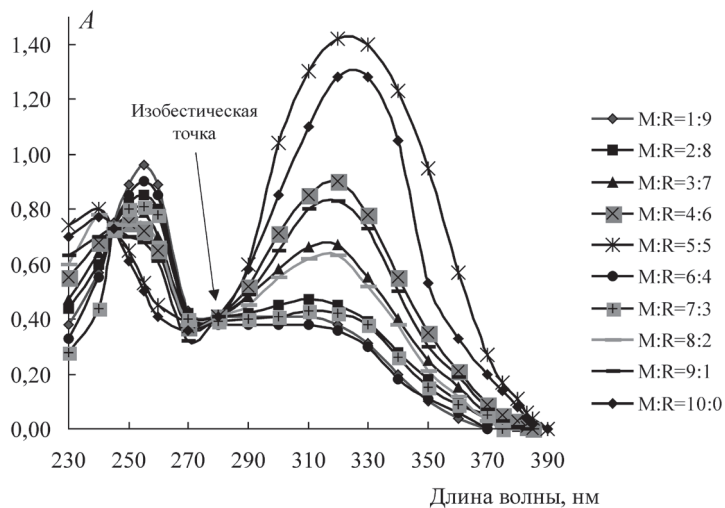


Рис. 23. Кривые поглощения изомолярной серии

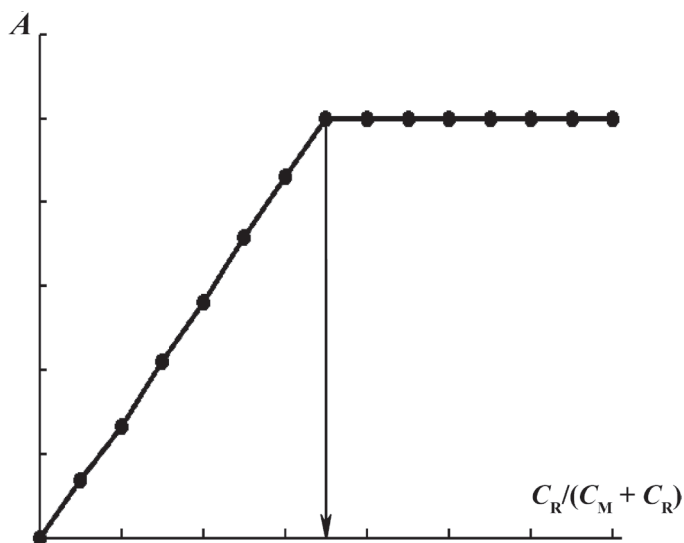


Рис. 24. Зависимость оптической плотности A от состава изомолярного раствора

Если комплекс не очень прочный, то изобестическая точка наблюдается нечетко и определение состава по кривым светопоглощения становится менее надежным.

На графике зависимости оптической плотности от состава изомолярного раствора при длине волны изобестической точки наблюдается плавный переход от одного прямолинейного участка к другому (рис. 24). В этом случае точка пересечения, определяющая состав комплекса, находится экстраполяцией прямолинейных участков до взаимного пересечения.

Реактивы и оборудование

1. Аммиачно-ацетатные буферные растворы с рН от 4,5 до 10,0 (ГОСТ 4919.2-77).
2. Исходный раствор арсеназо I с концентрацией $1 \cdot 10^{-3}$ моль/дм³.
3. Исходный раствор La^{3+} с концентрацией $1 \cdot 10^{-3}$ моль/дм³.
4. Вода дистиллированная (ГОСТ 6709-72).
5. Спектрофотометр ПЭ 5400 УФ (ЭКРОС), UV-mini 1240 UV-VIS spectrophotometer (Shimadzu).
6. Кюветы стеклянные с $\ell = 1$ см (ГОСТ 25336-82).
7. рН-метр «Эксперт».
8. Мерные колбы вместимостью 50,0 см³ (ГОСТ 1770-74).
9. Пипетки градуированные вместимостью 5,0 см³ (ГОСТ 29227-91).

Ход выполнения работы

Определение оптимальных условий комплексообразования La^{3+} с арсеназо I

Из исходных растворов арсеназо I и La^{3+} с концентрацией $1 \cdot 10^{-3}$ моль/дм³, готовят рабочие растворы с концентрацией $1 \cdot 10^{-4}$ моль/дм³.

Для приготовления серии растворов с разными значениями рН в мерные колбы вместимостью 50,0 см³ приливают 20,0 см³ буферного раствора, 5,0 см³ рабочего раствора арсеназо I и 5,0 см³ раствора лантана (III). Доводят до метки дистиллированной водой, тщательно перемешивают.

Измерение оптической плотности провести на приборе ФЭК в кюветах с $\ell = 1$ см, при разных значениях длин волн λ (490 нм, 540 нм, 590 нм) Результаты исследования заносят в таблицу 15.

Таблица 15

Измерение оптической плотности растворов арсеназо I и La^{3+} при разных значениях pH и λ

№	pH	Оптическая плотность раствора		
		$\lambda = 490$ нм	$\lambda = 540$ нм	$\lambda = 590$ нм
1	4,5			
2	5,0			
3	5,5			
4	6,0			
5	6,5			
6	7,0			
7	7,5			
8	8,0			
9	9,0			
10	10,0			

По полученным данным строят график зависимости $A = f(\text{pH})$ и определяют оптимальное значение pH реакции комплексообразования и длину волны для определения состава комплекса.

Спектрофотометрическое изучение состава комплекса La^{3+} с арсеназо I

Метод изомолярных серий

В мерных колбах вместимостью 50,0 см³ готовят серию изомолярных растворов, в которые, согласно таблице 16, вносят определенные объемы рабочих растворов La^{3+} и арсеназо I. Для поддержания выбранного значения pH (pH = 9,0) добавляют 20 см³ буферного раствора. Измеряют оптическую плотность всех растворов при

выбранной длине волны ($\lambda = 540$ нм). Полученные данные заносят в таблицу 16.

Таблица 16

**Значения оптической плотности растворов
изомолярной серии**

№	Объем рабочего раствора, см ³		Оптическая плотность, ($\lambda = 540$ нм)
	La ³⁺	арсеназо I	
1	0,0	10,0	
2	1,0	9,0	
3	2,0	8,0	
4	3,0	7,0	
5	4,0	6,0	
6	5,0	5,0	
7	6,0	4,0	
8	7,0	3,0	
9	8,0	2,0	
10	9,0	1,0	

Используя алгоритм обработки полученных данных, рассмотренный в теоретических основах метода, определяют состав комплексного соединения La³⁺ с арсеназо I.

Метод молярных отношений

Для определения состава комплекса данным методом готовят серию растворов с постоянной концентрацией La³⁺. В мерные колбы вместимостью 50,0 см³ вносят по 3,0 см³ рабочего раствора La³⁺, добавляют 20 см³ буферного раствора с pH = 9,0 и определенные, согласно таблице 17, количества рабочего раствора арсеназо I. Измеряют оптическую плотность растворов при длине волны 540 нм.

Таблица 17

**Значения оптической плотности растворов в методе
молярных отношений**

Объем арсеназо I, см ³	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0
Оптическая плотность							

Используя алгоритм обработки полученных данных, рассмотренный в теоретических основах метода, определяют состав комплексного соединения La^{3+} с арсеназо I.

Вывод: анализируя данные, полученные разными методами, делают заключение о составе комплексного соединения La^{3+} с арсеназо I и сравнивают его с действительным составом.

ПРИМЕНЕНИЕ СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ В УЛЬТРАФИОЛЕТОВОЙ И ВИДИМОЙ ОБЛАСТЯХ СПЕКТРА ДЛЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

Испытания на подлинность

Наличие определенных полос поглощения в спектре исследуемого вещества может указывать на присутствие в структуре этого соединения определенной функциональной группы. Этим объясняется сходство спектров веществ, содержащих фенольный радикал (эфедрин, димедрол, бензилпенициллин, атропин, апрофен и др.), характеризующийся тремя полосами поглощения около 251, 257 и 263 нм, фенольный гидроксил (адренилин, изпреналин, изадрин, экстрадиол, местранол, морфин и др.), для которого характерен максимум поглощения около 280 нм (растворы в воде или органическом растворителе), сопряженную еноновую систему в стероидных лекарственных веществах (кортизон, гидрокортизон, преднизон, преднизолон др.) с максимумом поглощения около 238 нм. Спектр поглощения раствора эфедрина гидрохлорида представлен на рис. 25, адренилина гидротартрата — на рис. 26, кортикостероидов — на рис. 27.

Указание длин волн при максимумах поглощения является лишь ориентировочной характеристикой, так как не позволяет судить об общем виде спектра.

Спектральные характеристики некоторых лекарственных средств, используемые для идентификации, представлены в таблице 18.

Чаще приводят максимумы при определенных длинах волн и указывают соответствующие им величины поглощения.

Спектр поглощения раствора пиридоксина гидрохлорида в фосфатном буферном растворе ($\text{pH} = 6,9$) с концентрацией 0,5 мг/мл в области от 230 до 350 нм имеет максимумы при 254 и 324 нм; поглощение в кювете с толщиной слоя 1 см при этих максимумах — соответственно 0,18 и 0,35 (МФ III) [24].

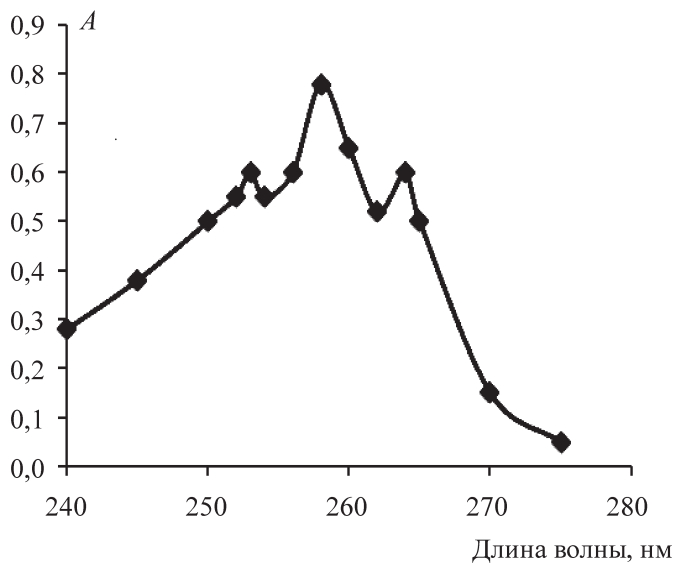


Рис. 25. Спектр поглощения раствора эфедрина гидрохлорида

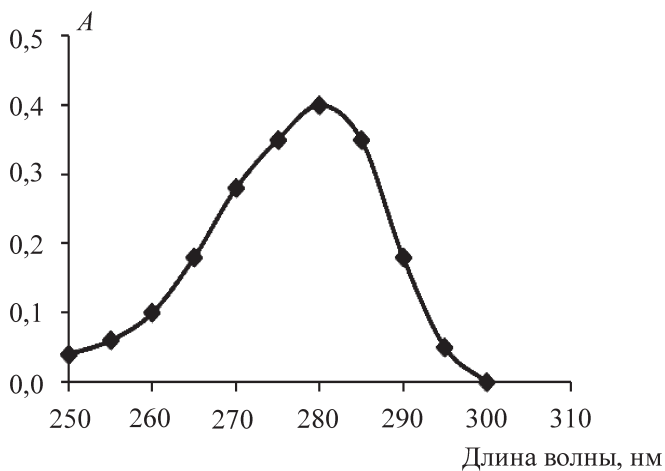


Рис. 26. Спектр поглощения адреналина гидротартрата в 0,01 моль/дм³ растворе HCl

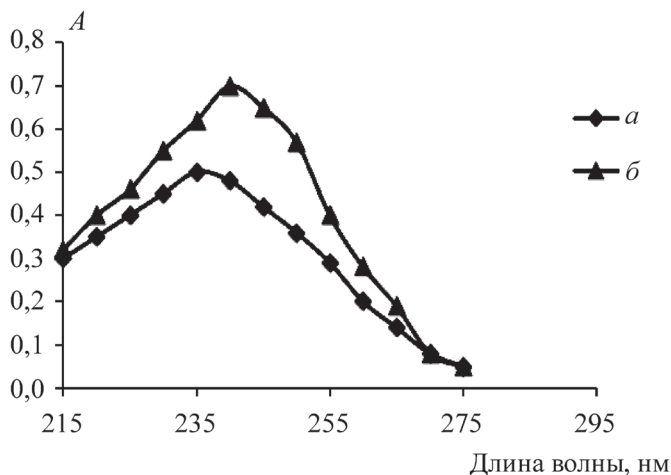


Рис. 27. Ультрафиолетовые спектры поглощения кортикостероидов
а — гидрокортизона ацетат (0,0015 %-й раствор);
б — кортизона ацетат (0,0008 %-й раствор)

Таблица 18

**Спектральные характеристики
некоторых лекарственных средств**

Название препарата	Растворитель	Концентрация, %	λ_{max} , нм
Кислота никотиновая	0,1 моль/дм ³ раствор HCl	0,001	261 ± 2
Цианокобаламин	Вода	0,002	278 ± 2
			361 ± 2
			550 ± 2
α -Токоферола ацетат	95 % спирт	0,01	285 ± 2
Аминопирин	0,1 моль/дм ³ раствор HCl	0,001	256 ± 2
Нитроксолин	95 % спирт	0,001	242 ± 2
			356 ± 2
			455 ± 2
Сульфапиридазин	0,1 моль/дм ³ раствор NaOH	0,001	255 ± 2
Цефалексин	Вода	0,002	260 ± 2

Удобным приемом при испытаниях на подлинность является определение отношения величин поглощения при двух максимумах. Такая методика, как указывается в МФ III, «умешает влияние переменных характеристик прибора на испытание и исключает необходимость использования стандартного образца» [24]. Например, для натрия *пара*-аминосалицилата отношение оптических плотностей 0,001 %-го раствора при длине волн 265 и 299 нм должно быть в пределах 1,50–1,56 при измерении в кювете с толщиной слоя 1 см.

Некоторые испытания на подлинность с использованием УФ-спектрофотометрии требуют применения стандартных образцов лекарственных веществ, приготовленных и анализируемых в тех же условиях, что и испытываемое вещество.

УФ-спектр 0,0005 %-го раствора этинилэстрадиола в 95 %-м спирте имеет максимумы и минимумы при тех же длинах волн, что и раствор стандартного образца, одинаковой концентрации и одновременно измеренный. Соответствующие величины поглощения, рассчитанные на сухое вещество, при максимуме поглощения около 281 нм не отличаются более чем на 3 %. Этот прием обеспечивает наиболее достоверные результаты, однако связан с обязательным применением стандартного образца.

Иногда величину поглощения при определенной длине волны указывают в виде удельного показателя $E_{1\text{ см}}^{1\%}$. Удельный показатель поглощения левомецитина $E_{1\text{ см}}^{1\%}$ при длине волны 278 нм — 290–305.

В ряде случаев (производные кислоты барбитуровой, сульфаниламиды, фенолы и др.) характер спектра может изменяться в зависимости от значения рН-раствора, поэтому в частной фармакопейной статье указывается значение рН, при котором проводится изменение.

Испытание на чистоту

УФ-характеристики в ряде случаев используются при испытаниях на чистоту и при исследовании стабильности лекарственных веществ, если изменения в характере спектра позволяют судить об изменениях вещества. При этом характерны те случаи, когда продукты разрушения поглощают в области, отличной от поглощения исследуемого вещества.

Примером может служить определение примесей адреналона и норадреналона соответственно в адреналине и норадреналине. Полоса поглощения «кетонов» — около 310 нм, для основных веществ — около 278 нм.

Предел содержания поглощающих примесей может быть установлен по величинам отношений поглощения при различных максимумах (фармакопейная статья «Цианокобаламин», «Ретинола ацетат», «Токоферола ацетат»).

Определение концентрации органического красителя

Для определения концентрации органического красителя применяют метод градуировочного графика. Измерение оптической плотности градуировочных растворов проводят при светофилтре, имеющим максимальное пропускание в той части спектра, где находится максимум поглощения красителя (табл. 19). Если максимум поглощения анализируемого красителя неизвестен, то измеряют оптическую плотность раствора при всех светофильтрах. Светофилтр, при котором наблюдается наибольшая оптическая плотность, считается наиболее пригодным. Правила выбора светофильтра описаны выше в практике молекулярно-абсорбционного анализа. С выбранным светофилтром измеряют оптические плотности градуировочных растворов и строят градуировочный график $A = f(C_{\text{красителя}})$. Затем измеряют оптическую плотность анализируемого раствора красителя и по графику находят концентрацию красителя в растворе.

Таблица 19

Максимумы поглощения растворов красителей

Красители	λ_{max} нм
Конго красный	490
Родамин	520
Прямой чисто-фиолетовый	540
Кислотный ярко-красный	560
Основной синий	600
Основной бирюзовый	620
Кислотный зеленый	640

Максимум поглощения определяет цвет красителя, и технические красители проверяют на соответствие максимума поглощения по сравнению с типовым образцом (табл. 19). Длины волн поглощения должны совпадать с точностью до 2 нм.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ

1. Опишите параметры электромагнитного излучения и связь между ними.

2. Укажите диапазон электромагнитного излучения, используемый в молекулярно-абсорбционном анализе. Какие процессы происходят в веществе при облучении его излучением данного диапазона длин волн?

3. Приведите классификацию методов анализа, основанных на взаимодействии электромагнитного излучения с веществом.

4. Сформулируйте понятия об оптической плотности и пропускании. Определите пределы изменения этих величин.

5. Нарисуйте баланс светового потока, взаимодействующего с раствором светопоглощающего вещества.

6. Сформулируйте основной закон светопоглощения и запишите его математическое выражение.

7. Поясните физические причины отклонения от основного закона поглощения излучения при светопоглощении растворов.

8. Приведите химические факторы, вызывающие отклонение от основного закона при светопоглощении растворов.

9. Опишите молярный коэффициент светопоглощения как количественную характеристику вероятности электронного перехода.

10. Представьте различия между колориметрическими и спектрофотометрическими методами определения концентрации элемента в растворе. Какой из этих методов предпочтительнее для определения перманганата калия, находящегося в смеси с дихроматом калия, и почему?

11. Укажите способы монохроматизации излучения.

12. Докажите на примере, что немонахроматичность поглощаемого излучения вызывает отклонение от основного закона поглощения излучения веществом.

13. Как выбрать светофильтр при фотоколориметрических измерениях?

14. Сформулируйте понятие о растворах сравнения и их использовании в спектрофотометрии.

15. Изложите способы определения концентрации в спектрофотометрии.

16. Опишите погрешности абсорбционного спектрального анализа.

17. Приведите достоинства и недостатки метода градуировочного графика при определении концентрации вещества в анализируемых однотипных и разнотипных материалах.

18. Раскройте сущность метода сравнения при определении концентрации вещества в растворе.

19. Объясните, как вычислить определяемый минимум окрашенного соединения при работе на определенном типе приборов.

20. Изложите методы определения концентраций в фотометрическом анализе. Какими преимуществами они обладают в сравнении друг с другом?

21. Опишите основные узлы блок-схемы для проведения молекулярного абсорбционного анализа.

22. Приведите типы приборов, используемые для измерения оптической плотности растворов. Достоинства и недостатки различных типов приборов.

23. Как выбрать оптимальную длину волны для проведения фотометрического анализа?

24. Укажите величины, характеризующие прохождение излучения через вещество.

25. Изобразите принципиальную схему однолучевого и двухлучевого фотоэлектроколориметра.

26. Сформулируйте закон аддитивности оптической плотности и его применение для анализа многокомпонентных смесей.

ЗАДАЧИ

С примерами решения задач можно ознакомиться в задачнике по физико-химическим методам анализа [25].

1. При прохождении через раствор толщиной 1 см интенсивность излучения ослабляется на 10 %. Какова будет интенсивность света при прохождении через этот же раствор толщиной 10 см?

2. Определите оптимальную толщину поглощающего слоя (кювету) для фотометрирования окрашенного раствора соли железа с молярным коэффициентом поглощения, равным $4 \cdot 10^{-3}$, при концентрациях:

- а) 2 мг железа в 50 см³;
- б) 0,05 мг железа в 50 см³.

Оптимальное значение оптической плотности равно 0,43.

3. Исследуемый раствор имеет оптическую плотность 0,9 при измерении в кювете с толщиной слоя 5 см. Чему равна его концентрация, если стандартный раствор, содержащий 5 мкг/см³ этого же вещества, имеет оптическую плотность 0,6 при измерении в кювете с толщиной слоя 3 см?

4. Содержание меди в полупроводниковом материале $1 \cdot 10^{-6} \%$. Каким минимальным молярным коэффициентом поглощения должно обладать комплексное соединение меди, в виде которого ее определяют спектрофотометрически, если навеска образца не должна превышать 1,0 г, конечный объем измеряемого раствора не должен быть меньше 5 см³, кювета имеет $\ell = 5$ см, минимальное значение оптической плотности, при которой возможна точность не ниже 10 %, составляет 0,02?

5. Стандартный раствор, содержащий 1 мкг/см³ кобальта, имеет оптическую плотность при аналитической длине волны 0,46.

Вычислите концентрацию, моль/л, кобальта в анализируемом растворе, если оптическая плотность раствора $A = 0,64$.

6. Рассчитайте пределы измерений оптических плотностей растворов, если пределы измерений пропускания света раствором составляют 5 и 90 %.

7. Формазан образует окрашенное комплексное соединение с никелем, молярные коэффициенты погашения которого составляют 12000 при 450 нм и 35500 при 620 нм. Аналогичные комплексы с данным формазаном образует медь. Характеристика формазаната меди: молярный коэффициент погашения при 450 нм равен 18000, а при 620 нм — 56000. Вычислите концентрацию меди и никеля в растворе, оптическая плотность которого при 450 нм равна 0,32, а при 620 нм 0,98.

8. Значение молярного коэффициента поглощения раствора моносulfосалицилата железа равно $1,6 \cdot 10^3$ л/см \cdot моль. Рассчитайте, каково должно быть содержание железа, мг/см 3 , в стандартных растворах, в приготовленных мерных колбах емкостью 100,0 см 3 , чтобы оптические плотности при измерениях в кюветах с толщиной слоя 1 см укладывались в интервал значений от 0,1 до 1,0.

9. Навеску стали 0,0532 г растворяли в кислоте, обработали диэтилдитиокарбаматом и довели объем раствора до 100,0 см 3 . Раствор фотометрировали при: 328 и 368 нм в кювете с толщиной слоя 2 см. При этом были получены следующие результаты: при $\lambda = 328$ нм, $A = 0,67$; при $\lambda = 368$ нм, $A = 0,45$. Определите содержание никеля и кобальта в стали (%), если при 328 нм $\epsilon_{\text{Ni}} = 35210$, $\epsilon_{\text{Co}} = 3919$, а при 368 нм $\epsilon_{\text{Ni}} = 21820$, $\epsilon_{\text{Co}} = 14340$ л/см \cdot моль.

10. Рассчитайте молярный коэффициент поглощения перманганата калия из следующих данных, полученных на спектрофотометре: толщина поглощающего слоя — 11,6 мм, $T = 40$ % при 500 нм, концентрация KMnO_4 равна $1,7 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

11. Известно, что образец стали содержит около 0,5 % кремния. Какую навеску стали следует растворить в 100,0 см 3 , чтобы отбирая 25,0 см 3 этого раствора в колбу на 50,0 см 3 , получить окраску, соответствующую по интенсивности окраске раствора, содержащего 0,25 мг кремния в 50,0 см 3 ?

12. Молярный коэффициент поглощения комплекса висмута (III) с тиомочевинной равен $9,3 \cdot 10^3$ л/(см·моль) при 470 нм. Какова оптическая плотность и пропускание в процентах $6,2 \cdot 10^{-6}$ моль/л раствора этого комплекса, измеренные при 470 нм в кювете длиной 1,0 см?

13. Рассчитайте концентрацию раствора, содержащего железо (III), по следующим данным: к 1,0 см³ анализируемого раствора добавлен ацетон, роданид аммония и вода — до 100,0 см³. Оптическая плотность полученного раствора при 430 нм в кювете 2 см равна 0,75. Молярный коэффициент поглощения при данной длине волны равен 14000 л/см·моль.

14. Рассчитайте концентрацию урана (VI) и урана (IV) в фосфорной кислоте по следующим данным. Молярный коэффициент поглощения для урана (IV) равен 2,0, а для урана (VI) равен 11 при 410 нм; при 630 нм для урана (IV) — 330, для урана (VI) — 0 л/(см·моль). При измерении оптических плотностей анализируемого раствора в кювете с толщиной поглощающего слоя 1 см найдены значения молярного коэффициента при 410 нм равное 0,50, при 630 нм — 0,80.

15. Приготовлено девять стандартных окрашенных растворов, содержащих в объеме 50,0 см³ 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0 мг железа. Оптическая плотность пятого раствора (5 мг Fe), измеренная поочередно относительно 1, 2, 3 и 4-го растворов, была равна соответственно 1,0; 0,75; 0,50; 0,25. Оптические плотности 6, 7, 8 и 9-го растворов, измеренные в тех же условиях по отношению к 5-му раствору, составила соответственно 0,25; 0,50; 0,75 и 1,0. Постройте по этим данным градуировочный график для двухстороннего дифференцирования и рассчитайте уравнение прямой этого графика.

16. Для определения кобальта с нитрозо-R-солью применяют дифференциальный метод добавок. Для этого из анализируемого раствора объемом 100,0 см³ берут две аликвотные части по 10,0 см³. К одной аликвотной части добавляют 2 см³ $2 \cdot 10^{-4}$ М раствора CoCl₂ и затем приготавливают одинаковые объемы окрашенных исследуемого раствора и раствора с добавкой. Для приготовления раствора сравнения берут 8 см³ анализируемого раствора и в аналогичных условиях получают окрашенный нулевой раствор (раствор сравнения). Относительные оптические плотности исследуемого раствора

с добавкой и без нее равны соответственно $A_{x+d} = 0,75$, $A_x = 0,35$.
Рассчитайте массу кобальта в анализируемом растворе.

17. Навеску полупроводникового материала 1,0 г растворили в 25,0 см³ кислоты и из 5,0 см³ этого раствора после соответствующей обработки получили 10,0 см³ окрашенного раствора PbR. Окрашенное соединение экстрагировали 2 см³ хлороформа и хлороформный экстракт фотометрировали в кювете с толщиной слоя 2 см. Какой молярный коэффициент поглощения должен быть у окрашенного соединения, чтобы при концентрации свинца в полупроводниковом материале $2 \cdot 10^{-5} \%$ оптическая плотность была бы 0,020?

Структура отчета

- название работы;
- цель работы;
- теоретические основы метода: сущность метода, принципиальная схема установки или прибора, графики, основное уравнение, формулы для расчетов;
 - реактивы и оборудование, используемые в ходе проведения работы;
 - методика измерений:
 - алгоритм подготовки пробы к анализу;
 - выполнение измерений;
 - экспериментальные данные;
 - градуировочные графики, построенные по экспериментальным данным;
- результаты вычислений;
- статистическая обработка результатов анализа;
- выводы.

Классификация спектральных методов анализа

1. По спектральным характеристикам оптического излучения:

- а) фотометрические методы — методы анализа окрашенных соединений, в интервале длин волн 400–750 нм;
- б) спектрофотометрические методы — методы анализа вещества в УФ, видимом и ИК области спектра, применяют световой поток с узким диапазоном длин волн ($\Delta\lambda \leq 10$ нм).

2. По виду взаимодействия вещества с излучением:

- а) абсорбционная фотометрия — методы, изучающие поглощение светового потока при его прохождении через объект;
- б) нефелометрия — методы, изучающие рассеивание света в объекте;
- в) турбидиметрия — метод анализа мутных сред, основанный на измерении интенсивности света, прошедшего через исследуемый объект;
- г) рефрактометрия — методы анализа, основанные на изучении преломлении света при прохождении его из одной среды в другую;
- д) рефлектометрия — метод анализа основанный на измерении интенсивности света отраженного от исследуемого объекта;
- е) эмиссионная фотометрия — методы, изучающие излучение света веществом;
- ж) люминисцентная фотометрия — методы, изучающие собственное свечение вещества при его возбуждении различными способами.

Диапазоны электромагнитного излучения

Название диапазона		Длины волн, λ	Частоты, ν	Источники
Радиоволны	Сверхдлинные	более 10 км	менее 30 кГц	Атмосферные и магнитосферные явления. Радиосвязь
	Длинные	10–1 км	30–300 кГц	
	Средние	1–100 м	300 кГц — 3 МГц	
	Короткие	100–10 м	3–30 МГц	
	Ультракороткие	10 м – 1 мм	30 МГц–300 ГГц	
Инфракрасное излучение		1 мм – 780 нм	300 ГГц — 429 ТГц	Излучение молекул и атомов при тепловых и электрических воздействиях
Видимое (оптическое) излучение		780–380 нм	429 –750 ТГц	
Ультрафиолетовое излучение		380–10 нм	$7,5 \cdot 10^{14}$ — $3 \cdot 10^{16}$ Гц	Излучение атомов под воздействием ускоренных электронов
Рентгеновское излучение		10 нм – 5 пм	$3 \cdot 10^{16}$ — $6 \cdot 10^{19}$ Гц	Атомные процессы при воздействии ускоренных заряженных частиц
Гамма-излучение		менее 5 пм	более $6 \cdot 10^{19}$ Гц	Ядерные и космические процессы, радиоактивный распад

Электронные переходы

Светопоглощение молекул в УФ-видимой области связано с возбуждением валентных электронов, находящихся в различных состояниях: n -, σ -, π -электронов (обычно в органических соединениях), d -, f -электронов (в ионах металлов), а также электронными переходами с переносом заряда (в комплексных соединениях).

Разделение молекулярных орбиталей на σ -, π - и n -орбитали связано с различным характером распределения электронной плотности. Для σ -орбиталей электронная плотность распределена симметрично относительно оси, связывающей ядра атомов. π -орбитали характеризуются симметрией относительно плоскости, проходящей через два или более ядер. σ - и π -орбитали могут быть связывающими или разрыхляющими. n -орбитали локализованы на гетероатоме, и они называются несвязывающими. В отличие от связывающих орбиталей, для них не существует парной разрыхляющей орбитали. В качестве примера на рис. 28 приведено распределение электронной плотности для некоторых орбиталей двухатомной молекулы.

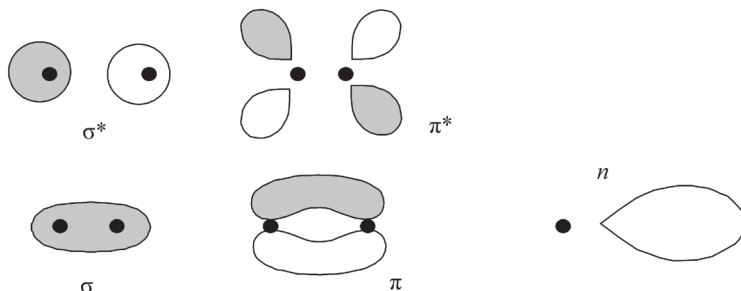


Рис. 28. Распределение электронной плотности для связывающих σ -, π -, разрыхляющих σ^* -, π^* - и несвязывающих n -орбиталей. Светлые и окрашенные области символизируют симметрию соответствующих волновых функций

Для молекулярных электронных переходов также справедливы определенные правила отбора. Они связаны с изменением спинового состояния, симметрии молекулярных орбиталей, колебательных квантовых чисел (принцип Франка — Кондона) и другими факторами. Более подробно об этом можно прочесть в учебниках по квантовой химии [10, 11].

Для нас представляет интерес возможные переходы n -, s -, π -электронов, изображенных на рис. 2 (см. стр. 8).

$\sigma \rightarrow \sigma^*$ -переходы связаны с самыми большими изменениями энергии. Они наблюдаются главным образом в вакуумной УФ-области (например, для насыщенных углеводородов) [13]. Коротковолновая полоса поглощения молекулы CH_4 лежит при 125 нм. Гомологи метана поглощают в более длинноволновой области, поскольку для возбуждения электронов связи C-C требуется меньше энергии, чем для связи C-H. Поскольку измерения при длинах волн меньше 190 нм возможны только с применением специальных вакуумных спектрометров, для аналитической практики $\sigma \rightarrow \sigma^*$ -переходы представляют незначительный интерес.

$n \rightarrow \sigma^*$ -переходы наблюдаются в более длинноволновой области спектра по сравнению с $\sigma \rightarrow \sigma^*$ -переходами. Значение длины волны в максимуме поглощения зависит от характера связи гетероатома и его электроотрицательности. В табл. 20 приведены характеристики некоторых полос поглощения переходов.

Таблица 20

Характеристики полос поглощения переходов для молекул, содержащих гетероатомы

Соединение	λ_{max} , нм	ϵ_{max} , л · моль ⁻¹ · см ⁻¹
H_2O	167	1480
CH_3Cl	173	200
CH_3OH	184	150
CH_3NH_2	215	600
$(\text{CH}_3)_3\text{N}$	227	900

Чтобы различить $n \rightarrow \sigma^*$ и $\sigma \rightarrow \sigma^*$ -переходы, можно использовать явление протонирования гетеротома (например, азота) в кислых средах. При этом полоса $n \rightarrow \sigma^*$ -перехода исчезает, поскольку присоединенный протон блокирует свободную электронную пару гетеротома.

$n \rightarrow \pi^*$ - и $\pi \rightarrow \pi^*$ -переходы имеют для аналитической химии наибольшее значение. Они находятся в наиболее длинноволновой области и имеют наибольшую интенсивность (вероятность перехода) по сравнению с переходами всех других типов. Рассмотрим сначала молекулу с изолированной

π -связью. Электроны π -связей более легко возбудимы, чем электроны σ -связей. Так, для этилена полоса $\pi \rightarrow \pi^*$ -перехода лежит при 162 нм.

Замещение водорода в молекуле этилена алкильным радикалом приводит к *батохромному* (в длинноволновую область) сдвигу полосы поглощения (табл. 21).

Таблица 21

Влияние алкильных заместителей на полосу поглощения

Вещество	λ_{\max} , нм	Вещество	λ_{\max} , нм
$\text{H}_2\text{C}=\text{CH}_2$	175	$\text{H}_3\text{C}-\underset{\text{O}}{\underset{\parallel}{\text{C}}}-\text{CH}=\text{CH}_2$	225
$\text{H}_2\text{C}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}_2$	217	$\text{H}_2\text{C}=\underset{\text{H}_3\text{C}}{\underset{ }{\text{C}}}-\underset{\text{CH}_3}{\underset{ }{\text{C}}}=\text{CH}_2$	226

Типичные группы-хромофоры (носители окраски) приведены на рис. 29. Для этих групп наряду с $\pi \rightarrow \pi^*$ наблюдаются и $n \rightarrow \pi^*$ -переходы, обусловленные наличием свободных электронных пар на атомах кислорода, азота и серы.

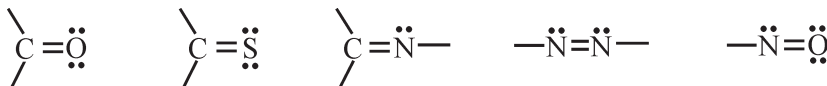


Рис. 29. Хромофорные группы, обуславливающие $\pi \rightarrow \pi^*$ - и $n \rightarrow \pi^*$ -переходы

Полосы $n \rightarrow \pi^*$ -переходов находятся в более длинноволновой области, чем $\pi \rightarrow \pi^*$ -переходов (см. схему электронных уровней на рис. 2, стр. 8), однако имеют наименьшую интенсивность. Так, для карбонильной группы максимум основной полосы поглощения, обусловленной $\pi \rightarrow \pi^*$ -переходом, лежит при длине волны менее 200 нм. На ней присутствует плечо при 270–280 нм, связанное с $n \rightarrow \pi^*$ -переходом. Его интенсивность составляет около 1 % от интенсивности в максимуме полосы.

С помощью соответствующего сочетания хромофорных групп можно достичь столь значительного батохромного сдвига, что поглощение будет наблюдаться в видимой области. В табл. 22 примеры хромофорных групп с длинноволновыми полосами поглощения $n \rightarrow \pi^*$ -переходов. Данные величины следует рассматривать лишь как ориентировочные. Точные значения

длин волн и молярных коэффициентов поглощения зависят от конкретных заместителей и природы растворителей (*Приложение 5*).

Таблица 22

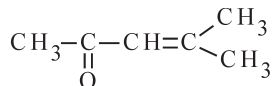
**Характеристики полос $n \rightarrow \pi^*$ -переходов
для некоторых хромофорных групп**

Группа	λ_{\max} , нм	ϵ_{\max} , л · моль ⁻¹ · см ⁻¹
>C=N-	240	159
>C=O	280	20
-N=N-	350	12,6
>C=S	500	10
-N=O	660	20

В общем случае для $n \rightarrow \pi^*$ -переходов с ростом полярности растворителя наблюдается *гипсохромный* сдвиг (в коротковолновую область), а с уменьшением полярности – *батохромный* сдвиг полосы поглощения (табл. 23).

Таблица 23

**Влияние растворителя на положение полос поглощения
окси мезитила**



Растворитель	$n \rightarrow \pi^*$ -переход λ_{\max} , нм	$\pi \rightarrow \pi^*$ -переход λ_{\max} , нм
<i>n</i> -гексан	327	230
Эфир	326	230
Этанол	315	237
Метанол	312	238
Вода	305	244

Из теории строения молекул известно, что сдвиг полос поглощения в длинноволновую (вплоть до видимой) область особенно значителен, если отдельные хромофорные группы находятся в сопряжении друг с другом.

Для изолированных двойных связей (например, 1,5-гексадиене) полоса поглощения практически не смещается, а ее интенсивность близка к сумме интенсивностей соответствующих отдельных полос. При сопряжении же наблюдается bathochromный сдвиг тем более значительный, чем больше двойных связей находятся в сопряжении. Например, для триенов (гексатриен) он выражен сильнее, чем для диенов (бутадиен) (рис. 30).





				
λ_{\max}	184 нм	185 нм	217 нм	250 нм
ϵ_{\max}	около 10000	около 20000	около 21000	
	1	2	3	4

Рис. 30. Влияние сопряжения хромофорных групп (на примере двойных связей в алкенах — пентен (1), 1,5-гексадиен (2), 1,3-бутадиен (3), 1,3,5-гексатриен (4)) на оптические характеристики

Дополнительный bathochromный сдвиг возникает при сопряжении хромофорных групп с электронодонорными (**ауксохромы**) или электроноакцепторными (**антиауксохромы**) группировками (см. рис. 3 на стр. 9). Влияние этих группировок очень хорошо прослеживается на примере ароматических соединений (см. табл. 1 на стр. 9).

Рассмотрим спектр поглощения бензола в УФ-области, приведенный на рис. 31. Он имеет три полосы. Самая длинноволновая (255 нм) имеет небольшую интенсивность ($\epsilon \approx 200 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$), так как обусловлена запрещенным $\pi \rightarrow \pi^*$ -переходом. Этот переход становится возможным только в результате взаимодействия с колебательными уровнями энергии. Соответствующая полоса имеет хорошо выраженную колебательную структуру. В области около 202 нм наблюдается еще одна, более интенсивная ($\epsilon \approx 8000 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$) полоса и третья самая интенсивная полоса $\lambda = 190 \text{ нм}$ ($\epsilon \approx 10^5 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$) отвечают разрешенным $\pi \rightarrow \pi^*$ -переходам.

Оба типа заместителей, ауксохромные и антиауксохромные, вызывают bathochromный сдвиг (см. табл. 1). Часто влияние заместителя проявляется не просто в изменении электронной плотности на отдельных атомах, но в удлинении цепочки сопряжения.

В УФ- и видимой области можно наблюдать и полосы, обусловленные переходами *d*- и *f*-электронов. Их описание основано на теории кристаллического поля и квантовохимических моделях. Для *d-d-переходов*

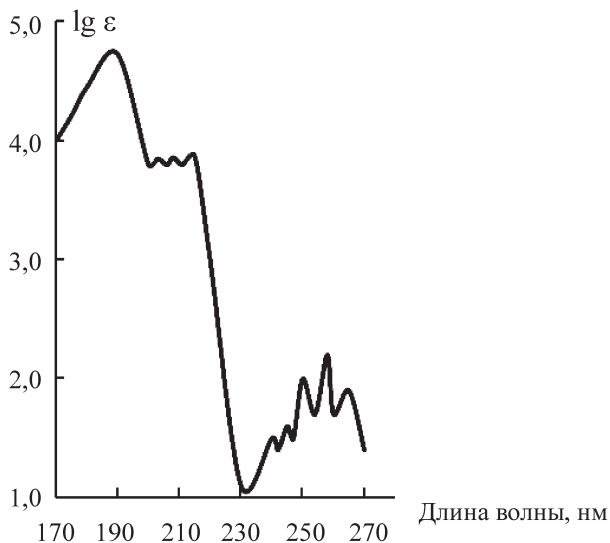


Рис. 31. Спектр поглощения бензола в УФ-области

в комплексах ионов металлов максимально возможные величины молярных коэффициентов поглощения составляют лишь $100\text{--}1000 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$.

Для аналитической химии особенно важны соединения, имеющие в своем спектре *полосы переноса заряда*. Они возникают при взаимодействии атомов – донора и акцептора электронов. Было показано, что для нитро- и карбонильных соединений может происходить внутримолекулярный перенос заряда (табл. 24). Типичными примерами могут служить многие комплексы ионов металлов с органическими реагентами, например иона Fe^{2+} (акцептор электронов) с 1,10-фенантролином (донор электронов). Для таких полос молярные коэффициенты поглощения достигают значений 10000 и выше. Поэтому комплексы с переносом заряда очень целесообразно использовать для фотометрического определения металлов.

Таблица 24

**Положение полос поглощения производных бензола
при внутримолекулярном переносе заряда**

Соединение	Первая полоса		Вторая полоса	
	λ_{max} , нм	ϵ_{max}	λ_{max} , нм	ϵ_{max}
Анилин	230	8600	280	1430
Анилий (катион)	203	7500	254	160
Бензойная кислота	230	11600	273	970
Бензойная кислота (анион)	224	8700	268	560
Фенол	210	6200	270	1450
Фенолят (анион)	235	9400	287	2600

Приложение 5

**Наиболее распространенные растворители
для УФ- и видимой спектроскопии
(расположены в порядке возрастания полярности)
и их коротковолновые границы прозрачности**

Растворитель	Граница прозрачности, нм
<i>n</i> -гексан	201
циклогексан	195
бензол	280
толуол	285
1,4-диоксан	215
хлороформ	240
диэтиловый эфир	200
ацетон	330
ацетонитрил	190
этанол	200
метанол	205
вода	200

Приложение 6

Длины волн спектра и соответствующие им окраски

Интервалы длин волн поглощаемого света, нм	Цвет поглощаемого излучения	Дополнительный цвет (наблюдаемый цвет раствора)
400–435	Фиолетовый	Желто-зеленый
435–480	Синий	Желтый
480–490	Зеленовато-синий	Оранжевый
490–500	Сине-зеленый	Красный
500–560	Зеленый	Пурпурный
560–580	Желто-зеленый	Фиолетовый
580–595	Желтый	Синий
595–605	Оранжевый	Зеленовато-синий
605–730	Красный	Сине-зеленый
730–760	Пурпурный	Зеленый

СПИСОК БИБЛИОГРАФИЧЕСКИХ ССЫЛОК

1. *Кристиан Г.* Аналитическая химия : в 2 т. М. : Бином. Лаборатория знаний, 2012.
2. *Отто М.* Современные методы аналитической химии. М. : Техносфера, 2008. 544 с.
3. Аналитическая химия и физико-химические методы анализа : в 2 т. / под ред. А. А. Ищенко. М. : Академия, 2012.
4. Основы аналитической химии : в 2 кн. / под ред. Ю. А. Золотова. М. : Высшая школа, 2004.
5. *Харитонов Ю. А., Джабаров Д. Н., Григорьева В. Ю.* Аналитическая химия. Количественный анализ, физико-химические методы анализа : практикум. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. 386 с.
6. Молекулярно-абсорбционный анализ : учеб. пособие / Л. В. Холевинская, Н. А. Желонкин, В. И. Кочеров и др. Свердловск : УПИ, 1988. 84 с.
7. *Васильев В. Н.* Теоретические основы физико-химических методов анализа. М. : Высшая школа, 1979. 184 с.
8. *Скуг Д., Уэст Д.* Основы аналитической химия : в 2 т. Т. 2. М. : Мир, 1979. 440 с.
9. *Юинг Г.* Инструментальные методы химического анализа. М. : Мир, 1989. 609 с.
10. *Грибов Л. А., Муштахова С. П.* Квантовая химия : учебник. М. : Гардарики, 1999. 392 с.
11. *Цирельсон В. Г.* Квантовая химия. Молекулы, молекулярные системы и твердые тела : учеб. пособие. М. : Бином. Лаборатория знаний, 2014. 520 с.
12. *Смагунова А. Н., Карпукова О. М.* Методы математической статистики в аналитической химии. Ростов н/Д : Феникс, 2012. 352 с.
13. *Саввин С. Б., Кузин Э. М.* Электронные спектры и структура органических реагентов. М. : Наука, 1974. 280 с.
14. *Бабко А. К., Пилипенко А. Т.* Фотометрический анализ. Общие сведения и аппаратура. М. : Химия, 1968. 388 с.
15. *Барковский В. Ф., Ганопольский В. И.* Дифференциальный спектрофотометрический анализ. М. : Химия, 1969. 168 с.
16. Химические методы анализа органических веществ : учеб.-метод. пособие / Е. В. Черданцева, М. В. Зыскин, И. В. Гейде и др. Екатеринбург : УрФУ, 2012. 105 с.

17. Лурье Ю. Ю. Справочник по аналитической химии : справоч. изд-е. М. : ИД «Альянс», 2007. 448 с.
18. Беликов В. Г. Фармацевтическая химия : в 2 ч. Ч. 1. М. : Высшая школа, 1993. 432 с.
19. Лабораторные работы по фармацевтической химии / под ред. В. Г. Беликова. М. : Высшая школа, 1989. 286 с.
20. Государственная Фармакопея Российской Федерации. 12-е изд-е. М. : Медицина, 2007. 704 с.
21. Булатов М. И., Калинин И. П. Практическое руководство по фотокolorиметрическим и спектрофотометрическим методам анализа. 5-е изд., перераб. и доп. Л. : Химия, 1986. 432 с.
22. Пешкова В. М., Громова М. Н. Методы абсорбционной спектроскопии в аналитической химии. М. : Высшая школа, 1976. 460 с.
23. Бех М., Нодьнал И. Исследование комплексообразований новейшими методами. М. : Мир, 1989. 300 с.
24. Международная Фармакопея : в 5 т. 3-е изд. Т. 1. Общие методы анализа. М. : Медицина, 1990.
25. Задачник по физико-химическим методам анализа / Ю. С. Ляликов, М. И. Булатов, В. И. Бодго и др. М. : Химия, 1972. 268 с.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие	4
Молекулярно-абсорбционная спектроскопия в ультрафиолетовой и видимой областях спектра (спектрофотометрия)	
Теоретические основы абсорбционного спектрального анализа	5
Практика молекулярно-абсорбционного анализа	18
Методы определения содержания вещества в абсорбционном спектральном анализе	21
Лабораторные работы	
Лабораторная работа № 1. Фотометрическое определение массы аскорбиновой кислоты в растворе с реактивом фоллина	29
Лабораторная работа № 2. Фотометрическое определение массы фенола в растворе	34
Лабораторная работа № 3. Спектрофотометрическое определение содержания резорцина в препарате	39
Лабораторная работа № 4. Количественное определение папаверина гидрохлорида и дибазола в таблетках «Папазол»	41
Лабораторная работа № 5. Спектрофотометрический анализ смеси <i>пара</i> - и <i>орто</i> -ванилинов	47
Лабораторная работа № 6. Спектрофотометрический анализ двухкомпонентной смеси: метиловый фиолетовый — бриллиантовый зеленый	49
Лабораторная работа № 7. Определение константы кислотной диссоциации тимолового синего (тимолсульфоталеин)	53
Лабораторная работа № 8. Спектрофотометрическое изучение комплексообразования лантана (III) с арсеназо I (определение состава координационного соединения)	61
Применение спектрофотометрии в ультрафиолетовой и видимой областях спектра для фармацевтической химии	
Испытания на подлинность	70
Испытание на чистоту	73
Определение концентрации органического красителя	74
Контрольные вопросы и задания	76
Задачи	78
Приложения	82
Список библиографических ссылок	93

Учебное издание

Черданцева Елена Викторовна
Гейде Ирина Валерьевна
Китаева Валентина Григорьевна
Зыскин Вениамин Михайлович
Марина Наталья Валентиновна
Матерн Анатолий Иванович

МОЛЕКУЛЯРНО-АБСОРБЦИОННЫЙ МЕТОД АНАЛИЗА ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

Учебно-методическое пособие

Заведующий редакцией
Редактор
Корректор
Оригинал-макет

*М. А. Овечкина
Е. Е. Крамаревская
Е. Е. Крамаревская
Л. А. Хухаревой*

План выпуска 2015 г. Подписано в печать 14.10.2015
Формат $60 \times 84^{1/16}$. Бумага офсетная. Гарнитура Times.
Уч.-изд. л. 5,0. Усл. печ. л. 5,6. Тираж 100 экз. Заказ 367.
Издательство Уральского университета
620000, г. Екатеринбург, ул. Тургенева, 4.

Отпечатано в Издательско-полиграфическом центре УрФУ
620000, Екатеринбург, ул. Тургенева, 4.
Тел.: + (343) 350-56-64, 350-90-13
Факс: +7 (343) 358-93-06
E-mail: press-urfu@mail.ru

